

## FLOW CYTOMETER DROPLET BREAK-OFF LOCATION ADJUSTMENT MECHANISM

Publication number: JP2002521658T

Publication date: 2002-07-16

Inventor:

Applicant:

Classification:

- International: G01N15/14; G01N15/14; (IPC1-7): G01N15/14

- European: G01N15/14C

Application number: JP20000561483T 19990625

Priority number(s): US19980119368 19980720; WO1999US14284  
19990625

Also published as:

WO0005566 (A1)

EP1099105 (A1)

US6079836 (A1)

EP1099105 (A0)

EP1099105 (B1)

[more >>](#)

[Report a data error](#) [help](#)

Abstract not available for JP2002521658T

Abstract of corresponding document: **WO0005566**

A droplet travel path monitoring mechanism for a flow cytometer is operative to adjust the droplet break-off point back to an initially calibrated spatial location, in the event of the departure from calibrated timing of gaps in the unsorted fluid droplet stream that have been created by the deflection of charged droplets. In addition, the flow cytometer is operative to monitor prescribed characteristics of deflected droplet streams, and to controllably adjust drop sorting deflection parameters, so as to maintain the deflected travel path of sorted droplets coincident with the opening into a sorted droplet collection container, thereby maximizing collection of all sorted droplets.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号  
特表2002-521658  
(P2002-521658A)

(43)公表日 平成14年7月16日(2002.7.16)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
G 0 1 N 15/14

識別記号

F I  
G 0 1 N 15/14

テマコト<sup>7</sup> (参考)  
A  
C

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 61 頁)

(21)出願番号 特願2000-561483(P2000-561483)  
(86) (22)出願日 平成11年6月25日(1999.6.25)  
(85)翻訳文提出日 平成13年1月22日(2001.1.22)  
(86)国際出願番号 PCT/US99/14284  
(87)国際公開番号 WO00/05566  
(87)国際公開日 平成12年2月3日(2000.2.3)  
(31)優先権主張番号 09/119, 368  
(32)優先日 平成10年7月20日(1998.7.20)  
(33)優先権主張国 米国(US)  
(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY,  
DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE), CN, JP

(71)出願人 コールター インターナショナル コーポ  
レイション  
アメリカ合衆国, フロリダ 33196,マイ  
アミ, 32-エ-02, サウスウェスト 147  
アベニュー 11800  
(72)発明者 パー, ロバート  
アメリカ合衆国, フロリダ 33186,マイ  
アミ, サウス ウエスト 101 レーン  
13539  
(74)代理人 弁理士 石田 敏 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 フローサイトメータの小滴分離点制御装置及び方法

(57)【要約】

フローサイトメータのための小滴移動経路監視機構は、荷電された小滴の偏向によって形成された非選別流体小滴流中の間隙が較正されたタイミングから逸脱した場合に、小滴分離点を調整して初めに較正された空間位置に戻すよう動作するものである。さらに、フローサイトメータは偏向された小滴流の所定の特性を監視し、小滴選別偏向パラメータを制御可能に調整して選別された小滴の偏向移動経路を選別小滴収容器への開口に一致した状態に維持し、それによって全ての選別された小滴の収集を最大化するよう動作する。

**【特許請求の範囲】**

**【請求項 1】** フローサイトメータの使用のための制御方法であって、

搬送流体が、小滴が前記搬送流体から分離する点を制御する小滴発生器に結合されたチャネルに沿って流れ、選択された小滴が、非選別小滴流が移動する非選別小滴経路から分離された選別小滴偏向経路に沿って荷電され、選別されるようない小滴選別器が動作する、フローサイトメータの使用のための、前記小滴が前記搬送流体から分離する前記点を制御する方法において、

(a) 前記小滴選別器による小滴の選別によって、前記の小滴の非選別流中に形成される間隙の存在について前記非選別小滴経路を監視するステップと、

(b) 前記ステップ(a)における前記間隙の検出によって前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するステップとを含むフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 2】** 前記ステップ(b)が、前記間隙が検出される時間と、前記間隙を形成した前記の選別された小滴が荷電された時間との間の第1の時間間隔と、第2の所定の時間間隔との間の差によって前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するステップを含む、請求項1に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 3】** 前記ステップ(a)が、前記小滴選別器による小滴の選別によって、小滴の前記非選別流中に形成される間隙の存在について間隙検出器によって前記非選別小滴経路を監視することを含み、かつ、前記ステップ(b)が、

(b1) 前記小滴選別器によって小滴が選別される時間に予測間隙移動タイマを開始するステップと、

(b2) 前記間隙が前記ステップ(a)で前記間隙検出器によって検出されると予想される時間から、前記間隙検出器から所定の数の小滴期間上流にある小滴が前記間隙検出器に到達するために必要な時間の長さを減算した時間より前の時間に前記予測間隙移動タイマを終了するステップと、

(b3) 前記ステップ(b2)での前記予測間隙移動タイマのタイムアウトに応答して、間隙検出器予測タイマと間隙予測差タイマを開始するステップであつて、該間隙検出器予測タイマが、小滴が前記間隙検出器の上流の位置から該位置

の下流の位置まで移動するために必要な時間より後の時間に及ぶ複数の小滴期間の継続期間後にタイムアウトになり、ここで、前記間隙予測差タイマが、前記予測間隙移動タイマがタイムアウトする際に開始され、前記間隙が前記間隙検出器に到達する時間に終了するステップと、

(b 4) 前記非選別小滴流中の間隙を表す出力信号について、前記間隙検出器予測タイマのタイミング期間中前記間隙検出器を監視するステップと、

(b 5) 前記の予想時間以外の時間での前記出力信号の発生に応答して、前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するステップとを含む、請求項 2 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項 4】 さらに、前記の選別された小滴の存在について前記選別小滴偏向経路を監視するステップ (c) を含み、前記ステップ (b) が、該ステップ (c) での前記選別された小滴の検出によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整することを含む、請求項 1 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項 5】 前記ステップ (c) が、前記選別小滴偏向経路で検出される前記選別された小滴の数と、前記小滴選別器によって選択的に選別される小滴の数の間の所定の関係によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整することを含む、請求項 4 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項 6】 前記ステップ (b) が、前記の非選別小滴移動の流れが遭遇する少なくとも 1 つの空気抵抗に基づく所定の間隙適格基準を満足する前記ステップ (a) で検出された間隙と、該間隙の下流端の直ぐ前の連続非選別小滴の数とに応答して、前記小滴発生器の動作を制御可能に調整することを含む、請求項 1 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項 7】 さらに、透明保護囲い板の壁表面に沿った方向に流体カーテンを向けることによって、前記選別小滴偏向経路及び前記非選別小滴経路の一部を前記サイトメータを取り巻く周囲空気の変動から遮蔽する前記ステップ (c) を含む、請求項 1 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項 8】 さらに、選択された小滴が前記選別小滴偏向経路と前記非選別小滴経路の間の補助移動経路に沿って偏向されるように、粒子がないと決定さ

れた前記選択された小滴を低減された荷電値で制御可能に荷電し、かつ、前記非選別小滴流中に間隙が検出されるか否かによって前記小滴選別器の偏向電界電圧が低下したかどうかを決定する前記ステップ(c)を含む、請求項1に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項9】** 搬送流体が流れるチャネルを有する流体流室を有するフローサイトメータであつて、該チャネルが、小滴が該搬送流体から分離する搬送流体移動経路に沿った点を制御する小滴発生器と、選択された小滴が、非選別小滴流がそれに沿って移動する非選別小滴経路から分離した選別小滴偏向経路に沿って荷電され、選別されるよう動作する小滴選別器とに結合され、前記流体流室と、該小滴選別器による小滴の選別によって形成された、前記の小滴の非選別流中の間隙の存在について前記非選別小滴経路を監視するよう動作する間隙検出器と、該間隙検出器による前記間隙の検出によって前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するよう動作する制御装置とを有するフローサイトメータ。

**【請求項10】** さらに、選別された小滴の存在について前記選別小滴偏向経路を監視するよう結合された選別小滴検出器を含み、前記制御装置が、該選別小滴検出器による前記選別された小滴の検出によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整するよう動作する、請求項9に記載のフローサイトメータ。

**【請求項11】** 前記制御装置が、前記選別小滴偏向経路中で検出される前記選別された小滴の数と、前記小滴選別器によって選択的に選別された小滴の数との間の所定の関係によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整するよう動作する、請求項10に記載のフローサイトメータ。

**【請求項12】** 前記制御装置が、前記の非選別小滴移動の流れが遭遇する少なくとも1つの空気抵抗と、間隙の下流端の直ぐ前の連続非選別小滴の数に基づく所定の間隙適格基準を満足する、前記間隙検出器によって検出される前記間隙に応答して前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するよう動作する、請求項9に記載のフローサイトメータ。

**【請求項13】** 前記制御装置が、選択された小滴を前記選別小滴偏向経路と前記非選別小滴経路の間の補助移動経路に沿って偏向させるように、前記小滴選別器が、粒子がないと判定された前記選別された小滴を低減された荷電値で荷

電し、前記非選別小滴流中に間隙が検出されるか否かによって前記小滴選別器の偏向電界電圧が低下したかどうかを決定するよう動作する、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

**【請求項 14】** 前記制御装置が、前記間隙が検出される時間と、前記間隙を形成した前記の選別された小滴が荷電された時間との間の第 1 の時間間隔と、第 2 の所定の時間間隔との間の差によって前記小滴発生器の動作を調整するよう動作する、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

**【請求項 15】** さらに、保護室の内壁表面に沿った方向に流体カーテンを向けることによって、前記選別小滴偏向経路及び前記非選別小滴経路の一部を前記サイトメータを取り巻く周囲空気の変動から遮蔽するよう構成された前記保護室を含む、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

**【請求項 16】** 前記保護室が、相互間に開いた内部小滴移動領域を規定するように、入口ポートから分岐して端部壁で終了する一対の側壁を有する、光学的に透明で、一般に円錐形に直線で囲まれたハウジングを備え、小滴荷電カラーが前記流体流室に隣接する前記保護室の上部首部分に配置され、荷電小滴偏向プレートが前記保護室の外部側壁に沿って位置する、請求項 15 に記載のフローサイトメータ。

**【請求項 17】** さらに、前記内壁表面に沿って前記室の空気排出ポートに真空制御された流体カーテンを向けるよう動作する、前記保護室の前記上部首部分の流体入口ポートと、前記一対の側壁の流体入口ポートとを含む、請求項 16 に記載のフローサイトメータ。

**【請求項 18】** 搬送流体が流れるチャネルを有する保護室を備えたフローサイトメータであつて、前記チャネルが、小滴が前記搬送流体から分離する点を制御する小滴発生器と、非選別小滴がそれに沿つて移動する非選別小滴経路から分離された偏向経路に沿つて選択された小滴を荷電し選別するよう動作する小滴選別器とに結合され、前記保護室が、相互間に開いた内部小滴移動領域を規定するように、入口ポートから分岐し端部壁で終了する一対の側壁を有する、光学的に透明で、一般に円錐形に直線で囲まれたハウジングを備え、小滴荷電カラーが前記流体流室に隣接する前記保護室の上部首部分に配置され、荷電小滴偏向プレ

ートが前記保護室の外部側壁に沿って位置する、フローサイトメータ。

**【請求項 19】** さらに、内壁表面に沿って前記室の空気排出ポートに真空制御された流体カーテンを向けるよう動作する、前記保護室の前記上部首部分の流体入口ポートと、前記一対の側壁の流体入口ポートとを含む、請求項 18 に記載の保護室を備えたフローサイトメータ。

**【請求項 20】** 前記端部壁が、前記非選別小滴経路と整合され、かつ、排出ポートによって廃棄物小滴容器に結合された一般に縦の穴を有し、さらに、前記一般に縦の穴から外れた前記端部壁の部分に配置された複数の選別小滴収集ポートを含み、外部の濾過されない空気による前記内部小滴移動領域の汚染を防止する相互間の弁を有し、前記室内の生物物質が前記フローサイトメータを汚染するのを防止する、請求項 19 に記載の保護室を備えたフローサイトメータ。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(発明の分野)**

本発明は、一般にフローサイトメータ (flow cytometer) システムに関し、特に、非選別及び偏向小滴流 (non-sorted and deflected droplet stream) の所定の特性を監視し、較正された小滴分離位置 (droplet break-off location) でサイトメータの流体の流れから小滴が分離する点を維持するように、小滴形成 (drop-formation) 及び小滴選別偏向 (drop-sorting deflection) パラメータを制御可能に調整するよう動作する、新しい改善されたフローサイトメータのアキテクチャ及びそのための信号処理制御機構に関する。

**【0002】****(発明の背景)**

フローサイトメータは一般に医療産業で利用され、疾病の診断及び治療の補助として、患者の体液中の粒子（例えば、血球 (blood cell)）を分析する。非制限的な例として、化学療法 (chemotherapy treatment) の過程でこのような計器が使用され、化学療法の前に患者の骨髄 (bone marrow) から除去されたある量の血液から健康な血球（幹細胞 (stem cell)）を選別し収集することがある。化学療法処理セッションが完了すると、収集された量の血球は患者に再注入されて戻され、マイグレーション (migration) と健康な血球の再生を促進する。

**【0003】**

この目的で、図1のサイトメータシステムの図で例示されているように、容器11内に保存された遠心分離機にかけられた血液試料の細胞といった分析対象の粒子11が搬送流体 (carrier fluid)（例えば、塩水）12の（加圧された）連続した、即ちとぎれない流れ (stream) の中に注入される。この搬送流体の流れは流体流室 (fluid flow chamber) またはフローセル14のフローチャネル13に沿った方向に向けられる。流体フローチャネル13は、1つかそれ以上のレーザ17といった光学的照明サブシステムによって放射される出力ビーム16と位置15で交差する。レーザ出力ビーム16が搬送流体の流れによって遮断された後、光検出サブシステム20の1つかそれ以上の光検出器がレーザ出力ビーム

16 の経路内に光学的に配置される。光検出サブシステム 20 は、細胞から反射された光、細胞による光の阻止、及び細胞に付着した蛍光染色抗体 (fluorescent dye antibody) からの光放射を含む、流体の流れの内容物 (content) (その中の粒子／細胞) によって変調された光を受け取るよう配置される。

#### 【0004】

光検出器出力信号が照明されたどの細胞を表すかに関する混乱を避けるために、サイトメータの流室 (flow chamber) を通る流体フローチャネル 13 は、粒子または細胞が一度に 1 個ずつだけレーザの出力ビーム 16 との交差位置 15 を通過するような構成と寸法にされる。その結果、図 2 のタイミング図に示されるように、光検出サブシステム 20 からの出力信号が搬送流体の流れによって運ばれる粒子によって変調されるので、21 で示され、図 2 のタイミング図の時間  $t_0$  で発生するような各変調信号を個々の細胞に関連付けることができる。光検出サブシステム 20 の出力が所望の細胞の 1 つかそれ以上のパラメータに関連する所定の「選別 (sort)」基準を満たす場合、それは流室の出口ポートまたは開口 18 の下流に配置された静電小滴選別器 (electrostatic droplet sorter) 24 によるその細胞を含む搬送流体の小滴 23 の選別を制御するために使用される。

#### 【0005】

搬送流体の流れは、流体流室に結合された音響的に（例えば、圧電変換器 (piezoelectric transducer) によって）駆動される小滴発生器 (droplet generator) 17 によって個々の小滴に変換される。個々の小滴は流体流室の出口ポート 18 ですぐに形成するのではなく、相互に連結した小滴流 22 として進み、室の出口ポートの下流の位置 25 で分離する。また、細胞がレーザビーム交差位置 15 を通過する時間  $t_0$  と、その細胞を含む搬送流体の流れの最後の付着した部分が、垂直移動経路 (vertical travel path) 26 に沿って移動する流れまたは一連の小滴の中の別個の小滴 23 として搬送流体の流れから実際に物理的に分離する次の時間  $t_1$  との間には時間  $t_{01}$  の「選別」遅延 (‘sort’ delay) 即ち間隔が存在する。

#### 【0006】

流室出口ポート 18 の下流で小滴が形成する位置 25 は、小滴発生器駆動信号

のパラメータを変化させることによって調整される。小滴が形成される比率は音響駆動信号 (acoustic drive frequency) の周波数によって管理され、その小滴は小滴発生器 27 の圧電振動の周波数に同期する。非制限的な例として、小滴発生器 27 に印加される音響駆動周波数は、21～480 kPa (3～70 psi) 程度の流体圧力で、4～100 kHz 程度である。

#### 【0007】

光検出器出力は通常デジタル化された後、サイトメータの制御ワークステーション 50 の関連監視制御プロセッサによって実行される細胞型マッピング (cell type mapping) または識別 (identification) アルゴリズムによって分析される。この分析に基づいて、制御プロセッサは小滴選別器 24 の荷電及び偏向 (charging and deflection) 制御回路 52 に制御信号を供給し、小滴を選別または中止する。

#### 【0008】

流室の出口ポート 18 を出る流体の流れから分離即ち分かれる個々の小滴 23 を制御可能に選別するために、小滴選別器 24 は一連の小滴 (droplet sequence) の移動経路 26 を取り囲む静電荷電カラー (electrostatic charging collar) 31 を利用する。荷電カラー 31 は、個々の小滴 23 が流体の流れから分かれ、通常長さが小滴数個分である一連の小滴の移動経路 26 に沿った位置を取り囲むように配置された金属シリンダを備えることができる。荷電カラー 31 は流体质出口ポート 18 の垂直下流で、かつ荷電小滴 23 の流れがその間を通過する関連する 1 組の静電 (反対の極性、高電圧の) 側面プレート 33 と 35 の上流に配置され、その際荷電小滴の流れは下向きに移動し、選別経路 36 に沿って選別されて選別小滴収集容器 41 に入るか、または選別されずに移動経路 26 を通過して放棄または廃棄される廃棄物容器 43 に入る。

#### 【0009】

システムワークステーション 50 によって実行される細胞分析及び選別ルーチン (sorting routine) の制御の下で、継続期間  $t_{12}$  の所定の荷電電圧パルス 32 は時間  $t_1$ 、すなわち選別遅延  $t_{01}$  の終了時に荷電カラー 31 に選択的に印加されて、パルス継続期間間隔  $t_{12}$  の終了時の時間  $t_2$  で終了し、それによ

って選別すべき細胞を含む小滴 23C を帶電させる。選択的に帶電させられた小滴 23C は、2つの反対の極性の高電圧偏向プレート 33 及び 35 の間を通過する際逆の電荷 (opposite charge) を有するプレートに引きつけられ、一方では同時に同じまたは同様の電荷 (the same or like charge) を有するプレートによって反発される。この静電ステアリング作用 (electrostatic steering action) によって、荷電小滴 23C は主小滴移動経路 26 のかたわらの偏向移動経路 36 に沿った方向に向けられ、選別小滴収集容器 41 に入る。

#### 【0010】

上述のように、流体の流れの中の関心のある任意の所定の細胞または粒子について、光検出サブシステム 20 がその細胞に対する出力信号 21 を生成する時間  $t_0$  と、その細胞を含む小滴 23 が流体の流れから (位置 25 で) 分離する選別パルスの時間との間には「選別」遅延が存在する。この選別遅延の正確な継続期間を知ることは小滴 (drop) の正確な選別のために極めて重要であるが、それは偏向プレート 33 及び 35 によって偏向され、その後選別小滴収集容器 41 内に収集されるのは印加された選別荷電パルス (sort charging pulse) 32 の時間  $t_1$  に流体の流れから分離する最後の付着した小滴だけだからである。

#### 【0011】

選別遅延は、搬送流体の圧力、小滴発生器出口ポートの大きさ及び表面特性、搬送流体の粘性、及び圧電振動の振幅を含む様々なパラメータによって影響される。パラメータの中には、小滴形成点の位置に影響を及ぼす流体搬送の圧力といった正確に制御できるものもあるが、制御できないものもある。例えば、物質が流室出口ポートに蓄積して流体の流れの自然エネルギーを変化させ、小滴形成点を流室の近くに移動させことがある。他の要因には、計器振動の音響結合 (acoustic coupling) 、室内雑音、そのユニットの外部の室内機械装置の振動等が含まれる。

#### 【0012】

その結果、小滴形成位置 25 を正確に設定するために一連の試験及び較正ステップを事前に行なうことが標準的な慣行となっている。非制限的な例として、これは、流体の流れを観察するために (顕微鏡対物レンズまたはビデオカメラといっ

た) 正密画像補助器具を使用してまずはじめにレーザ交差点 15 からある所定の距離に小滴形成点 25 を手動で設定することで達成される。小滴発生器 27 への圧電駆動信号の励起周波数 (excitation frequency) に同期して発光ダイオードを点滅させると、流体の流れから形成された小滴 23 は静止して見えるようになる。次に、圧電駆動信号の振幅を制御によって増大または減少することで、操作員は、小滴の最初の形成が基準または位置決め目盛りに一致する点まで、小滴形成点をレーザ交差点に近付けたり遠ざけたり移動させることができる。

#### 【0013】

次に、操作員は、実際の選別遅延時間が数滴 (several drops) 以内になる範囲内にシステムを調整するように、事前の実験に基づいて決定された選別遅延時間を選別システムに入力する。システムを 1 滴 (one droplet) 以内の精度にするために、操作員は、サイズの面で生物学的細胞 (biological cell) を模倣した試験用ビーズ (beads) を使用して較正選別運転を設定及び実行する。ビーズはスライド (slide) の上で選別され、そのスライドが (顕微鏡下で) 観察されて、スライド上のビーズの数がシステムが選別したと報告したビーズの数に一致するかどうかが決定される。

#### 【0014】

数が一致しない場合は、システムは選別遅延時間を変更するか、または音響駆動信号の振幅を変化させて小滴形成点を移動させることによって調整される。この操作はビーズの数が正しくなるまで必要に応じて反復的に繰り返される。このように初期較正されたシステムでは、ドリフトについて視覚的に監視され、操作員は流体の流れと小滴の移動を観察することができる。選別パラメータが同じに留まっていることを検証するため、上述のスライドとビーズの分析シーケンス (analysis sequence) が繰り返される。容易に認識されるように、この試行錯誤手順は時間のかかる過程であり、操作員の知識がない場合選別工程中に試料が失われたり選別容器が汚染されたりすることがあり得る。

#### 【0015】

残念ながら、この問題を改善するためになされた提案は複雑で費用がかかり、必ずしも完全な解決法ではない。例えば、1 つの提案は、レーザビーム交差位置

15の下流だが小滴分離点25より前のある点で連続的な流体の流れへ「第2の目」(‘second look’)を取り入れ、追加のレーザー光検出サブシステムから構成された試験モードの光学的前向き誤差補正システム(forward error correction system)を組み込むものである。第2の光システムの目的は、流体の流れに注入された試験用ビーズが予想された時間に下流検出位置に到達したかどうかを確認することである。

#### 【0016】

別の提案によれば、小滴の流れの全体的な速度にずれ(shift)がないかどうかを決定するために補助レーザが利用される。このアプローチの明らかな欠点は、最後の付着した小滴が流体の流れから分離する場所を正確に決定するという根本的な問題に対処していないことである。さらに別の提案は、第2レーザを最初に設定した小滴分離点に配置し、その点で流れを監視することである。残念ながら、レーザが固定式に位置決めされているので、それは、分離点が移動した場合容易に再位置決めすることができない。

#### 【0017】

##### (発明の概要)

従来のフローサイトメータ計器の上述の欠点は、(小滴選別機構の小滴荷電力ラー内の)初期較正空間位置で小滴分離点を維持するよう動作するフィードバックベースの(feedback-based)信号処理機構によって成功裡に改善される。以下に述べるように、本発明は、光検出サブシステムを使用して、荷電小滴の偏向によって作り出された流体小滴流(fluid droplet stream)中の間隙(gap)を探すものである。こうした間隙が小滴流の経路内の所定の下流位置で検出される時間と、間隙を作り出した偏向された小滴(deflected droplet)が小滴荷電カラード帯電した時間との間の差が較正基準間隔と比較される。2つの間の差がある場合それをを利用して小滴発生器への圧電駆動信号の振幅を調整し、必要に応じてその計器を較正に戻す。

#### 【0018】

本発明による小滴分離位置調整機構を利用するフローサイトメタシステムの計器設置アーキテクチャ(instrumentation architecture)は、上述の図1のシ

システムを、主の、即ち非選別の小滴移動経路 (unsorted droplet travel path) に関する非選別小滴「間隙」検出器 (unsorted droplet 'gap' detector) と、選別小滴移動経路 (sorted droplet travel path) に関する偏向／選別小滴検出器 (deflected/sorted droplet detector) とを備えて、増強する (augment) ものである。非選別小滴間隙検出器は、小滴選別器の下流の位置で非選別小滴移動経路と交差する検査ウィンドー (viewing window) を提供するよう配置される、光エネルギー発生源 (optical energy source) と関連光検出器を備えている。

#### 【0019】

非選別小滴間隙検出器は、小滴選別器の荷電カラーハー内の位置で搬送流体の流れから分離して、廃棄物容器の方向に下向きに移動している、さもなければ一般に空間的に周期的に連続した (periodic sequence) 非選別 (非荷電) 小滴であるものにおける間隙の存在を識別する (identify) よう動作する。非選別小滴流の中の間隙の存在によって、(選別されるべき) 小滴が荷電されて、偏向経路 (deflection path) に沿って選別された小滴の収集容器の方向に移動していることが示される。

#### 【0020】

正しく較正されたシステムでは、選別／荷電された小滴がサイトメータ流室 (flow chamber) を出る流体の流れから分離する時間と、その後の、荷電小滴の偏向の結果生じる小滴流内の間隙が間隙検出器に到達する時間との間の差は所定の「間隙」移動時間間隔 ('gap' transit time interval) である。システムが較正された状態にある限り、この間隙通過時間は一定である。しかし、間隙通過時間に変化があれば、それは小滴形成点がその較正点から移動したことを示している。この間隙移動時間の変化を利用して、小滴発生器への圧電駆動信号の振幅を調整して計器を較正状態 (calibration) に戻す。

#### 【0021】

非選別小滴流の中の間隙の移動時間を測定するために、「予測」間隙移動タイマー ('predicted' gap transit timer) が選別遅延の終了時に開始するが、これは荷電パルスが小滴選別器の荷電カラーハーに印加される時間にも一致する。予測間

隙移動タイマは、間隙が非選別小滴間隙検出器の検査ウィンドー内に到達すると予想される時間の前に生ずる時間にタイムアウトになるようプログラムされる。この時間は、較正された間隙移動時間間隔から、間隙検出器から上流の所定の数（例えば、2個）の小滴位置にある小滴が間隙検出器に到達するのに必要な時間の長さを減算した時間間隔に等しく設定される。

#### 【0022】

予測間隙移動タイマがタイムアウトになると、間隙検出器予測タイマ（gap detector prediction timer）と間隙予測差タイマ（gap prediction difference timer）が各々開始する。間隙検出器予測タイマはある数Nの小滴期間（droplet period）に等しい継続期間を経過してタイムアウトになるが、これはN個の連続非選別小滴が非選別小滴移動経路に沿ったある所定の点を通過して移動するために必要な時間に対応する。間隙検出器予測タイマがタイムアウトする時間は、小滴が間隙検出器の検査ウィンドーの上流の位置からその位置の下流の位置に移動するために必要な時間よりわずかに後の時間に生ずるので、間隙検出器予測タイマのタイミングウィンドー（timing window）または間隔は、間隙検出器検査ウィンドーの幅全体をカバーする小滴移動距離を十分にカバーするものである。

#### 【0023】

間隙予測差タイマは、予測間隙移動タイミングウィンドー（predicted gap transit timing window）の終りで開始し、間隙が非選別小滴間隙検出器によって検出される時間に終了するタイミング継続期間（timing duration）を有する。すなわち、予測間隙移動ウィンドーと間隙予測差ウィンドーの継続期間の合計は較正された間隙移動時間に等しい。

#### 【0024】

間隙検出器予測タイマのタイミングウィンドーの間、間隙検出器ステーションの光検出器の出力は、非選別小滴流の中の間隙の存在を示す信号変化（signal transition）について監視される。予想（較正）された時間以外の時間にこの間隙検出信号が発生することはタイミング誤差を示し、その値は間隙予測差タイマの測定値からオフセット小滴期間（offset droplet period）を減算したものに等しい。

**【0025】**

間隙移動時間間隔の変化は、小滴形成位置が流体流室の出口ポートから更に離れる方向（下流）またはそれに近付く方向（上流）に移動して、選別遅延時間間隔の変化を生じさせたことを意味する。この状態に対しては、小滴発生器への圧電駆動信号の振幅もそれに応じて変化して、小滴はその較正点で分離し、それによって現在検出されている間隙移動時間間隔が減少して較正された間隔に整合する。

**【0026】**

小滴は流体流室の出口ポートと小滴収集容器の間の空气中を通って移動するので、空気抵抗に遭遇し、これは小滴のパターンに影響を与え、それによって間隙のタイミング（gap timing）に干渉する。直ぐ前に別の小滴を有さない小滴は、その速度を減少させそれらの予想位置よりわずかに後になる（fall back）、即ち遅延する（retarded）ようにするのに十分な空気抵抗に遭遇することが観察されている。しかし、直ぐ前にいくつか（例えば、3個またはそれ以上）の小滴を有する小滴はこのような空気抵抗に遭遇せず、その移動経路に沿った速度を維持することも判明している。この空気抵抗による間隙の歪曲（gap-skewing）の問題を補償するためには、非選別小滴移動経路に沿って移動する小滴のための様々なタイマによって導出された間隙の測定値は、その間隙の直ぐ前に所定の数（例えば、3個またはそれ以上）の非選別小滴がある場合でないかぎり利用されない。

**【0027】**

空気抵抗は、非選別小滴移動経路に沿った間隙の移動に影響を与えることに加えて、選別小滴偏向経路（sorted droplet deflection path）に沿った偏向された小滴の移動をも遅延させる。この空気抵抗は、偏向／選別される小滴が偏向されない小滴によって互いに間隔を空けられている場合は問題ないが、非選別移動経路から偏向された小滴が互いにすぐに連続している場合には問題になる。

**【0028】**

2個のすぐに続く小滴が主移動経路から偏向される場合、一番前的小滴の速度は遭遇する空気抵抗によって遅延され、次に続くより速い速度で移動する偏向さ

れた小滴と共に小滴対またはパケット (packet) を形成する。この小滴パケットが選別小滴検出器 (sorted droplet detector) を通過する時は、検出器は 1 個の大きな小滴のように見えるものを検知することになるので、検出器は 1 個の小滴の場合より大きな振幅を有する单一の出力パルスを発生する。選別小滴検出器は、選別された小滴の移動経路が選別小滴収集容器内へ小滴を受け取る開口部 (droplet receiving opening) に一致したままになるように、小滴選別器の荷電カラーに印加される荷電電圧パルス (charging voltage pulse) の大きさを制御するために利用される。

#### 【0029】

3 個のすぐに続く小滴が主移動経路から偏向された場合、空気の抵抗が最初の 2 個の小滴の速度を遅らせるので、それらは次に続く、より速くで移動する第 3 の偏向された小滴と共に小滴 3 個組パケット (trio packet) を形成する。この小滴 3 個組パケットが選別小滴検出器を通過する時、小滴検出器はやはり 1 個の大きな小滴のように見えるものを検知するので、小滴検出器は 1 個の小滴または小滴対の場合より大きな振幅を有する单一のパルスを発生する。

#### 【0030】

しかし、3 個より多い連続した小滴が偏向される場合には、第 4 及びそれ以上の追加の連続小滴は事実上空気抵抗によって遅らされない。1 個の小滴の前に 3 個かそれ以上の小滴がある場合は、それは遅らされずに移動し、上流の小滴または小滴のパケットから間隔を開けられていることが観測された。その結果、3 個より多い連続する選別された小滴の場合、選別小滴検出器は最初の 3 個組パケットを 1 個の大きな小滴として検出し、それに続く第 4 及びその後の小滴を普通の寸法の、個別の小滴として検出する。

#### 【0031】

選別小滴検出器からの出力パルスは寸法に関して識別されないので、各出力パルスは 1 個の偏向された小滴だけを表すものと見なされる。選別小滴検出器によって発生されるパルスに及ぼす小滴対及び 3 個組の小滴の空気抵抗による「パケット化」 ('packetizing') の影響を補正するために、小滴選別器に増分的 (incrementally) に印加される選別 (小滴荷電 (droplet-charging)) 信号が連

続する小滴 (sequential droplets) に関するか否かに関する決定がなされる。2つの連続した選別信号 (sequential sorting signal) だけが発生される場合は、それらは1個の小滴パケットとしてカウントされる。3つかそれ以上の連続した選別信号が発生される場合は、最初の3つの選別信号は1個の小滴パケットとしてカウントされ、追加の連続選別信号 (consecutive sorting signal) は追加の小滴パケットとしてカウントされる。

#### 【003.2】

こうした選別信号は選別信号カウンタによってカウントされ、その出力が選別小滴検出器によって生成されるパルスの数の現在の計数 (running count) と比較される。2つの計数合計の間の差が所定の誤差限度を越える場合、小滴選別器の荷電カラーに印加される荷電電圧パルスの大きさが、その2つの比較される小滴計数値と同じになるまで調整される。この同じになった時点で、小滴選別器の荷電カラーに印加される荷電電圧の大きさは、選別された小滴の偏向移動経路を選別小滴収集容器の開口部に一致させ、それによって全ての選別された小滴の収集を最大化する値であろう。荷電電圧の調整によって小滴計数値の差を許容範囲内にすることのできない場合は、警報状態であることが宣言され、システムが再較正されるまで選別処理を打ち切る。

#### 【003.3】

選別及び非選別の両方の小滴が落下する際通過する空気の抵抗によって引き起される速度の低減の問題に加えて、選別領域内の望ましくない気流の影響という副次的な問題が存在する。間隙タイミング調整機構 (gap timing adjustment mechanism) は小滴を取り巻く周囲空气中の非常に小さな変動にも影響を受けやすいので、透明保護室 (transparent protective chamber) を使用して、サイトメータの付近でのシステム操作員の動きによって生じ得るような周囲空気の移動から流体流室と収集容器の間の小滴移動領域を隔離している。

#### 【003.4】

さて、この隔離室 (isolation chamber) は周囲環境からのともすれば妨害となる気流の侵入からサイトメータの小滴移動経路を遮蔽するために有効であるが、この密閉ハウジングの使用に関する問題は、小滴が形成される際に生じる小

さな流体粒子が室の内面に付着し間隙検出器や選別小滴検出器の検知領域をふさぐことがあるという事実である。さらに、多くの塩分を含んだ湿気は小滴選別器の偏向プレート間の静電絶縁破壊電位を低減することがある。こうした起こりうる問題を解決するために、1対の真空制御されたエアカーテン (air curtain) が隔離室の内壁表面に沿った方向に向けられる。エアカーテンは室の壁表面だけに沿って流れるので、非選別または選別された小滴の移動の速度または方向に相互作用または影響しない。

#### 【0035】

選別操作の過程で、まれに、選別された小滴間に比較的長い時間間隔が生じ、その間間隙検出器や選別小滴検出器からの出力信号が上述のオンラインシステム調整を行うために利用することができなくなることがある。このように小滴選別ができないことのためにシステムの調整が妨げられるのを避けるために、関心のある粒子または細胞が全くないと判定された「較正」小滴 ('calibration' droplet) は、小滴選別器の荷電カラーに印加される荷電電圧を低減して（例えは、公称の10パーセントで）制御可能に荷電される。このように荷電の大きさを低減すると、選択された空の小滴 (empty droplet) は、非選別小滴移動経路からそれているが、選別小滴移動経路からは十分に間隔が開けられている補助移動経路に沿って偏向されるので、この較正小滴は選別小滴収集容器によって収集され得ない。

#### 【0036】

このことは間隙タイミングの測定を可能にするが、正常に偏向された小滴の位置の決定を可能にするものではない。即ち、偏向電界電圧 (deflection field voltage) が低下した場合、低下した荷電電圧は非選別小滴流に検出可能な間隙を生じさせるのに十分なものではなくなるので、偏向角度 (deflection angle) は減少していないものとして確認される。

#### 【0037】

偏向のため小滴を正しく荷電するために、小滴がなお（最後の接続された小滴 (last connected droplet) として）流体の流れに接続されている、即ちその一部である時間の間に荷電電圧パルスを荷電カラーに印加するようにして、電荷移

動のために導電性経路 (conductive path) が確実に利用できるようにしなければならない。また、荷電電圧は小滴が流体の主流から分離するまで維持されなければならない。小滴は導電性表面に接触するまでこの電荷を運び、それによって電荷は小滴から放散することができる。荷電電圧パルスは通常 1 つの小滴期間に等しいパルス幅を有する。

#### 【0038】

本発明のさらに別の特徴によれば、荷電電圧パルスは正常な小滴期間の終了前に終了し、小滴がまだ較正された選別時間に主搬送流体の流れから分離する過程にある時に確実に荷電されるようとする。小滴分離時間がこの小滴荷電ウィンドー (drop-charging window) の外にドリフトする場合は、小滴はそれが主搬送流から分離する時荷電されていないので、それは偏向されず、非選別小滴流内に間隙を残すことはないであろう。小滴を選別しないことは選別誤差として検出されるが、誤差を生じさせた分離位置のドリフトによって望ましくない小滴が荷電及び選別されることが許容されることはないので、選別された小滴の収集容器の内容の汚染が避けられる。

#### 【0039】

##### (詳細な説明)

本発明の新しい改善されたフローサイトメータの小滴分離位置調整機構を詳細に述べる前に、本発明は主として、事実上従来のフローサイトメータ計器 (instrumentation) と関連ディジタル信号処理構成要素、及びそのための、このような回路及び構成要素の動作を制御する付属の監視制御回路の所定の配置に関するものであることを認識しておくべきである。従って、その回路構成要素の構成及びそれらが他の通信システム機器とインタフェースで結ぶ方法は大部分が容易に理解可能な図面によって説明されており、本明細書に記述して利益を受ける当業者にとって容易に明らかである詳細を述べてかえって開示を不明確にすることのないように、本発明に関連する特定の細部だけを示すものである。すなわち、ブロック図による例示は主として、従来の機能グループ (functional grouping) におけるフローサイトメータシステムの主要構成要素を示して、それによって本発明がさらに容易に理解されるようになることを目的としている。

### 【0040】

図3は、本発明による小滴分離位置調整機構を利用するフローサイトメータシステムの計器設置アキテクチャの概略を例示するが、対応するタイミング図の説明との関連を容易にするために $90^{\circ}$ 回転して示している。ここに示されるように、本発明のサイトメータのアキテクチャは本質的には前述の、図1に示したものと同じ構成要素を備えているが、付加的な「荷電後」（‘post’ -charging）の小滴の間隙監視ステーション（droplet gap monitoring station）60を有している。この付加的小滴間隙監視ステーションは、赤外線エミッタ（IRエミッタ；infrared emitter）のような光エネルギー源61と、関連する光検出器63を備えるものとして概略的に例示されているが、それらは、小滴選別器24の静電偏向プレート33及び35の下流の位置で小滴移動経路26と交差する検査ウィンドー65を提供するよう配置されている。

### 【0041】

上記で簡単に述べたように、小滴間隙監視ステーション60の機能は、荷電カラー31内の位置25で搬送流体の流れ22から分離し、廃棄物容器43の方向に下向きに移動している、そもそもなければ一般に空間的に周期的に連続した非選別（非荷電）小滴23であるものにおける間隙28の存在を識別することである。小滴流中の間隙28の存在は、小滴が荷電され、選別された小滴の収集容器41の方向に偏向経路36に沿って移動していることを示す。

### 【0042】

図4のタイミング図に示されるように、正しく較正されたシステムでは、移動経路の位置25で流体の流れ22から分離する際小滴23Cを荷電させるために小滴荷電パルスが印加される時間t1と、間隙28が小滴間隙監視ステーション60に到達する時間t3との間の差は所定の「間隙」移動時間間隔t13である。搬送流の流体圧力は独立した流体圧力制御システム（図示せず）によって一定に保持されるので、小滴流の速度は変化しないことが理解されるべきである。システムが較正された状態にある限り（すなわち、小滴が流体の流れから分離する点25が変化しない限り）、この間隙移動時間間隔t13は一定のままである。しかし、移動時間間隔t13の長さの変化があれば、それは小滴形成点がその較

正点から変化したことを示している。

#### 【0043】

例えば、間隙移動時間間隔  $t_{13}$  が増大することは、小滴形成位置 25 が流体流室の出口ポートに（上流方向に）近づいて移動し、それによって選別パルス（sort pulse）31 が印加される前に小滴（選別すべきものとみなされる粒子を含む）が流体の流れから分離したことを意味する。これによって所望の粒子は収集容器 41 でなく廃棄物容器 43 に移動するようになる。小滴まる 1 個分だけ時間がドリフトした場合は、代わりに次の小滴が選別されることになり、これはその小滴に含まれるものによって収集容器 41 の中身を汚染することがある。

#### 【0044】

この状態に対しては、小滴発生器 27 への圧電駆動信号の振幅を減少させ、より少ない振動エネルギーが流体の流れに結合されるようにされるので、小滴はさらに下流で分離し、間隙移動時間間隔  $t_{13}$  を較正状態に戻す。逆に、間隙移動時間間隔が減少することは、小滴形成位置 25 が流体流室の出口ポートから（下流方向に）離れて移動し、選別パルス 31 が印加された後に小滴（選別すべきものとみなされる粒子を含む）が流体の流れから分離したことを意味する。これによってやはり所望の粒子は収集容器 41 でなく廃棄物容器 43 に移動するようになる。

#### 【0045】

この状態に対しては、小滴発生器 27 への圧電駆動信号の振幅を増大させ、より多くの振動エネルギーが流体の流れに結合されるようにされるので、小滴はさらに上流で（流体室の出口開口に近づいて）分離し、間隙移動時間間隔を較正状態に戻す。

小滴流中の間隙の移動時間を正確に測定することができる方法の概略が図 5 A 及び図 5 B のタイミング図に例示されている。以下の説明は個別に選別された小滴とその関連する間隙に対するタイミングを取り扱っているが、処理シーケンスの様々なタイミング測定は全ての選別された小滴について実行されることが理解されるべきである。これは、小滴選別器から下流の間隙検出回路までの移動時間だけ全ての選別イベント信号（sort event signal）を遅延させた後、この遅延

された選別情報を、間隙検出及び選別小滴検出回路からの信号と比較することによって達成される。なお、これらの信号は実時間で発生される。

#### 【0046】

この目的で、選別（小滴荷電）信号が小滴選別器24に印加される際、選別表示信号（sort representative signal）が選別操作のために必要な分解能（resolution）に等しいレート（rate）でメモリ装置の順次位置（sequential location）に書き込まれる。非制限的な例として、（圧電変換器が16KHzで駆動される場合）小滴1ヶの16分の1の分解能に関連する256Khzの書き込みクロックが利用できる。

#### 【0047】

次に、下流の検出回路から発生される信号と比較されるべき格納された選別データがメモリ装置のオフセット位置（offset location）から読み出されるが、これは小滴選別器24から検出回路までの1つの移動期間の遅延に対応する。この例では、移動時間はそのオフセットを決定するため除算され $1/256, 000$ となる。このようにして、遅延された選別情報信号は、間隙及び小滴検出器からの実時間検出信号と事実上同時（concurrent）になる。次にこのデータが分析されて関心の対象となる事象であるとみなされるかどうかが決定され、信号間の差がメモリに書き込まれ、システムのプロセッサによって処理される。

#### 【0048】

さらに詳しく言うと、較正されたシステムに基づいて、予測間隙移動間隔（predicted gap transit interval） $t_{14}$ が分離／荷電時間 $t_1 \sim t_4$ から測定されるが、時間 $t_4$ は間隙28が小滴間隙監視ステーション60に到達すると予想される時間 $t_3$ より前に生ずる。予測間隙移動タイミングウィンドー $t_{14}$ が終了する時間 $t_4$ は、較正された間隙移動時間間隔 $t_{13}$ から、間隙監視ステーションから上流の所定の数（例えば、非制限的な例として2個）の小滴位置にある小滴が間隙監視ステーションに到達するために必要な時間の長さを減算したものに等しく設定される。

#### 【0049】

予測間隙移動間隔 $t_{14}$ が時間 $t_4$ で終了すると、間隙検出器予測タイミング

測定間隔  $t_{45}$  と間隙予測タイミング測定間隔  $t_{43}$  の各々が始まる。間隙検出器予測タイミング測定間隔  $t_{45}$  はある数Nの小滴期間 (droplet period) (例えば、4つの小滴期間) に等しい継続期間を経過してタイムアウトになるが、これはN個 (例えば、4個) の連続小滴が小滴移動経路26に沿ったある所定の点を通過して移動するのに必要な時間に対応する。

#### 【0050】

予測移動間隔 (predicted transit interval)  $t_{14}$  が終了する時間  $t_4$  は間隙監視ステーション60の検査ウィンドー65の前端67の小滴2個分上流にあるので、間隙検出器予測タイミング測定  $t_{45}$  がタイムアウトになる時間  $t_5$  は、間隙監視ステーション60の検査ウィンドー65の上流端 (upstream end) 67の2小滴期間分下流である。図5A及び図5Bの非制限的な例の場合、時間  $t_5$  は、小滴が検査ウィンドー65の前端67の小滴2個分上流の位置からその位置の小滴4個分下流の位置まで移動するために必要な時間よりわずかに遅く生ずるので、間隙検出器予測タイミング測定  $t_{45}$  のタイミングウィンドーは検査ウィンドー65の前端67を通過する際に実際の間隙を捕捉し、間隙が小滴1個分より多くドリフトした場合でもそれを行うのに十分なものである。

#### 【0051】

間隙予測タイミング測定ウィンドー  $t_{43}$  は、予測間隙移動タイミングウィンドー  $t_{14}$  の終りの  $t_4$  で始まり、間隙28の先端 (leading edge) が小滴間隙監視ステーション60で検出される時間で終了するタイミング継続期間を有する。すなわち、予測間隙移動タイミングウィンドー  $t_{14}$  と間隙予測タイミングウィンドー  $t_{43}$  の継続期間の合計は実際の間隙移動時間間に等しい。

#### 【0052】

間隙検出器予測タイミング測定  $t_{45}$  のタイミングウィンドーの間、間隙検出器ステーションの光検出器63の出力が、移動経路26中の小滴流の中の間隙の存在を示す信号変化200について監視される。図5Aは誤差のない間隙移動 (gap transition) を示し、そこでは間隙は、較正された移動時間  $t_{13}$  の終了時である時間  $t_3$  で生ずる。誤差を決定するため、間隙検出器予測タイミングウィンドー  $t_{45}$  の2分の1が間隙予測差  $t_{43}$  から減算されるが、この場合は減算

の結果は0であり、すなわち誤差はない。

#### 【0053】

しかし、図5Bのタイミング図に示されるように、間隙検出信号は時間  $t_{3'}$  で発生することもあるが、これは、システムが較正されていたなら間隙信号が生ずるはずの時間  $t_3$  より（例えば、小滴1個分の期間だけ）早い時間である。この場合は、実際のタイミング誤差（図5Bに間隙予測誤差として示されている）は、間隙予測差タイミングウィンドー  $t_{4'3}$  の測定値から間隙検出器予測タイミングのウィンドーの2分の1、すなわち小滴2個分の期間を減算したものに等しい。

#### 【0054】

上述のように、間隙移動時間間隔  $t_{1'3}$  が減少することは、小滴形成位置25が流体の流室の出口ポートから離れて（下流に）移動して、粒子搬送流体のプラグ（plug）が選別遅延時間と整合しなくなるようにすることを意味するが、これは個々の小滴内の粒子の位置に関する不確実性を生じさせ、それによって選別収集容器内のこれらの粒子の回収（recovery）をその純度と共に低下させる。

#### 【0055】

間隙検出時間  $t_{3'}$  が較正された間隙検出時間  $t_3$  より前に生ずるこの状態では、小滴発生器27への圧電駆動信号の振幅がわずかに増大し、従って、小滴はさらに上流（流体室の出口の開口により近い方）で分離し、それによって現在の検出された間隙移動時間間隔（currently detected gap transit time interval） $t_{1'3'}$  は較正された間隔  $t_{1'3}$  に整合する方向に短縮される。

#### 【0056】

小滴は流体流室14の出口ポート18と小滴収集容器41及び43の間の空気を通って移動するので空気抵抗に遭遇し、そのために小滴のパターンが影響され、また、それによって間隙タイミングが干渉される。特に、その直前に別の小滴を有さない小滴は、その速度を減らし、予想位置からわずかに後になる、または遅延させるに充分な空気抵抗に遭遇することが観察されている。しかし、その直前にいくつか（例えば、3個またはそれ以上）の数の小滴を有する小滴はこのような空気抵抗に遭遇せず、その移動経路に沿ってその速度を維持することも判明している。

**【0057】**

この遭遇する空気抵抗の問題の概略が図6に例示されているが、そこでは、経路26に沿って移動する非選別小滴23-1、23-2及び23-3に、選別小滴偏向経路36に沿って移動するように示されている小滴23-4の選別によって形成される間隙23-4Gが続いている。非選別小滴23-5の直ぐ前方に間隙23-4Gが存在するため、小滴23-5は速度が減速されるのに十分な空気抵抗に遭遇し、これは図6でおよそ小滴1個分の期間として示されている。この順序の次の小滴は、偏向経路36に沿って移動する選別即ち偏向された小滴23-6であり、従って、小滴移動経路26には間隙23-6Gが存在する。

**【0058】**

しかし、この間隙23-6Gの直ぐ前方にある非選別小滴23-5の速度が減速されているため、この間隙の存在により、間隙検出器ステーションの光検出器63の出力に供給される間隙検出信号63Sと関連タイミングマーク63-Tは不正確になり、それを使用して小滴分離位置25を調整することはできない。同様の問題は小滴23-9～23-13によって形成される間隙についても生ずる。図示の例では、その後有用な間隙は、その前に5個の連続した小滴23-14～23-18を有する小滴23-19まで生じない。上述の空気抵抗による間隙の歪曲の問題を補償するために、主即ち非選別小滴移動経路26を横断する小滴に対する様々なタイミング測定によって導出される間隙測定は、その間隙が直前に所定の数（例えば、3個またはそれ以上）の非選別小滴によって先行されているのでなければ利用されない。

**【0059】**

非選別小滴移動経路26に沿った間隙の移動に影響を与えることに加えて、空気抵抗はまた、選別小滴偏向経路36に沿った偏向された小滴の移動をも遅延させる。これは、非選別小滴移動経路6から偏向された小滴が偏向されていない小滴によって互いに間隔をあけられている場合（すなわち、非選別小滴移動経路内のすぐに続く小滴が偏向されていない場合）には問題にならない。しかし、非選別小滴移動経路26から偏向された小滴が互いにすぐ続いている場合には問題になる。

### 【0060】

さらに詳しく言うと、図7は、2個のすぐに続く小滴23D1及び23D2が非選別小滴移動経路から偏向される状態の概略を例示している。空気の抵抗のために、一番前の小滴23D1の速度が減速され、それによって次に続くさらに高速で移動する偏向された小滴23D2と小滴対のパケット23P2を形成するようになる。この小滴対のパケット23P2は、赤外線エミッタ（IRエミッタ）のような光源68によって発生される光ビームと交差し、その出力が偏向された、即ち選別された小滴の検出器70に向けられる時、検出器70は1個の大きな小滴のように見えるとみなすので、1個の小滴の場合より大きな振幅を有する单一のパルス71を発生する。以下にさらに詳細に述べられるように、選別小滴検出器70を利用して荷電カラー31に印加される荷電電圧パルス32の大きさが制御されるので、選別された小滴の移動経路36は選別小滴収集容器41への開口に一致した状態に留まり、それによって全ての選別された小滴の収集は最大化される。

### 【0061】

図8は、3個のすぐに続く小滴23D1、23D2及び23D3が非選別小滴移動経路から偏向される状態の概略を例示する。ここでも、空気の抵抗によって最初の2個の小滴23D1及び23D2の速度が減速されるので、それらは次に続くさらに高速で移動する偏向された小滴23D3と共に小滴3個組パケット23P3を形成する。この小滴3個組パケット23P3が選別小滴検出器70を通過する時小滴検出器はやはり1個の大きな小滴のように見えるとみなすので、1個の小滴または小滴対の場合より大きい振幅を有する单一のパルスを発生する。

### 【0062】

上記で指摘したように、その直ぐ前にいくつか（例えば、3個またはそれ以上）の小滴を有する小滴の速度は空気抵抗によって事実上減速されない。偏向された小滴に対するこの影響の概略が図9に例示されるが、これは非選別小滴移動経路から偏向された4個のすぐに続く小滴23D1～23D4を示している。ここでは、図8の場合のように、最初の3個の小滴23D1～23D3が、第3の小滴23D3の速度で移動する3個組パケット23P3を形成する。しかし、第4

の小滴23D4は、前に3個かそれ以上の小滴によって先行されるので減速されず、3個組パケット23P3から間隔を有して移動する。その結果、選別小滴検出器70は3個組パケット23P3を1個の大きな小滴のように見えるとみなし、それに第4の小滴23D4が続くので、比較的大きな振幅を有する第1パルス73を発生し、それに1個の小滴を表す振幅を有する第2パルス74が続く。

#### 【0063】

選別小滴検出器70からの出力パルスは寸法に関して識別されないので、各出力パルスは1個だけの偏向された小滴を表すと見なされる。選別小滴検出器70によって発生されるパルスに対する小滴対及び3個組小滴の空気抵抗による「パケット化」の影響を補正するために、小滴選別器24に増分的に印加される選別（小滴荷電）信号が連続した小滴に関するかどうかに関する決定がなされる。2つの連続した信号だけが発生される場合は、それらは1個の小滴パケットとしてカウントされる。3つかそれ以上の連続した選別信号が発生される場合、最初の3つの選別信号は1個の小滴パケットとしてカウントされ、さらに追加される連続した選別信号があればそれは追加の小滴パケットとしてカウントされる。

#### 【0064】

図10に示されるように、こうした選別信号が発生される際、それらは選別信号カウンタ75によってカウントされ、その出力は比較器77で、選別小滴検出器70によって生成されるパルスをカウントするカウンタ78の出力と比較される。2つの計数合計の間の差が所定の誤差限度を越える場合は、2つの比較された小滴計数値が同じになるまで、小滴選別器24の荷電カラー31に印加される荷電電圧パルス32の大きさがワークステーションのプロセッサ50によって調整される。

#### 【0065】

この時点では、小滴選別器の荷電カラーに印加される荷電電圧の大きさは、選別された小滴の偏向移動経路36を選別小滴収集容器41の開口に一致させる値となり、それによって全ての選別された小滴の収集が最適化される。荷電電圧の調整によって許容範囲内の小滴計数値差にすることができない場合は、警報状態が宣言され、システムが再較正されるまで選別処理が打ち切られる。

**【0066】**

選別及び非選別小滴の両方が落下する際通過する空気の抵抗によって生ずる速度遅延の問題に加えて、選別領域における望ましくない気流の影響という副次的な問題が存在する。特に、上述の間隙タイミング調整機構は小滴を取り巻く周囲空気の移動の非常に小さな変動にも影響されやすい。本発明のさらに別の特徴によれば、この問題は、流体流室の出口開口18と収集容器41及び43の間の小滴移動領域を保護隔離室内に閉じ込めてことによって有効に除去される。

**【0067】**

好適であるが、非制限的な実施例によれば、保護室は、光学的に透明であり、図11～図13及び図15～図20に示される方法で、透明プラスチック材料（clear plastic material）のような、頑丈な透明材料の一般に円錐形に直線で囲まれたハウジング（rectilinear housing）100として構成されており、一対の側壁102及び104を有し、これは入口ポート106から分岐して端部壁108で終了し、従って、相互間に開いた内部領域110を規定している。ハウジング周辺の上部及び底部表面はそれぞれ透明カバープレート112及び114によって覆われている。室の入口ポート106には気密シールによって荷電カラー202が取り付けられ、荷電カラー202には気密シールによってフローセル（flow cell）204が取り付けられている。荷電カラー202はそれを通る通路205を有する立方形（cube-shaped）プラスチック部品として構成されるので、穴部（orifice）206でフローセル204を出る小滴が室入口106まで通過できる。

**【0068】**

荷電小滴偏向プレート33及び35は、図示されるように側壁102及び104の外側に並んで配置される。端部壁108の中心は、非選別小滴移動経路26と整合され、排出ポート（exhaust port）123を介して廃棄物収集容器43に結合される一般に縦の穴（longitudinal bore）121を有する。さらに、1対の選別小滴収集ポート131及び133が、穴121の両側に段をつけた（offset）端部壁108の一部に配置されている。ポート131及び133は止め栓（stop-cock）を用いて弁で調節され、外部の濾過されない空気による室の汚染を

防止すると共に、有害な粒子を選別した後室内に残されることのある生物物質 (biological material) が計器を汚染するのを防止する。この止め栓は、収集チューブを取り外すとき操作員によって閉じられる。選別小滴収集容器 207 はこれら的小滴収集ポートの 1 つに連結される。

#### 【0069】

上述のように、密閉ハウジングを使用することは、小滴が形成される時に生成される小さな流体粒子が室の内面に付着し、間隙検出器及び選別小滴検出器の検知領域を塞ぐことになりやすい。さらに、多くの塩分を含む湿気によって偏向プレート 33 及び 35 の間の静電絶縁破壊または短絡の電位を低下させことがある。こうした問題は、1 対の真空制御されるエアカーテンを室の内壁表面に沿って流すことによって有効に回避される。

#### 【0070】

この目的で、図 11、図 15 及び図 17～図 19 に示されるように、空気入口 210 に連結される荷電カラー 202 内の 1 対の空気入口ポート (pneumatic inlet port) 203 及び 208 が、1 対の空気入口ポート 141 及び 143 と共に側壁 102 及び 104 に設置されるので、図 20 に示されるように、真空制御されるエアカーテン 211、213 が荷電カラー及びポート 141、143 から隔壁室の内壁表面に沿った方向に向けられる。

#### 【0071】

室と、ひいては選別された小滴の生物学的汚染 (bio-contamination) を防止するために、室の空気入口ポート 141 及び 143 は、荷電カラー入口ポート 203 及び 208 と共に、2 ミクロン以上の大きさの粒子の通過を阻止するよう設計されたフィルタに接続される。このフィルタは周囲空気へのポートを有する (ported)。

#### 【0072】

上記で指摘したように、エアカーテンは室の壁表面だけに沿って流れるので、非選別または選別小滴の移動速度または方向と相互に作用したり、それらに影響を与えることはない。制御されたエアカーテンは低真空ポート (low vacuum port) 201 によって排出される。真空レベルは、エアカーテンが室を通じて引か

れるが、エアカーテンが間隙タイミング測定に干渉するほど高くないようくに設定される。非制限的な例として、水銀柱の 1. 27 ~ 2. 54 cm (2 分の 1 ~ 1 インチ) の真空が利用され得る。

#### 【0073】

まれではあるが、選別操作中のある状況では、選別小滴の間で比較的長時間の間隔が発生し、上述のオンラインのシステム調整を行うために間隙検出器 60 と選別小滴検出器 70 からの出力信号が表面上利用できないことがある。この可能性に適応させるために、その各々が粒子が全くないと判定された 3 個組の連続小滴の中央の 1 個は、低減された大きさの電圧（例えば、荷電電圧パルスの正常な大きさの 10 パーセントだけを有するもの）を荷電カラー 31 に印加することによって「わずかに」荷電される。

#### 【0074】

図 14 に概略が例示されているように、この低減された大きさの荷電によって、選択された空の小滴 23E は、非選別小滴移動経路 26 の横にわずかにそれでいて、まだ小滴 23E は非選別小滴収集容器 43 によって収集できる補助移動経路 46 に沿って偏向される。これは正常に偏向された小滴の位置の検査を可能にするものではないが、しかし、プレート 33 及び 35 に印加される偏向電界電圧が低下した場合、10 パーセントの電圧は非選別小滴流内に検出可能な間隙 28 を生じさせるには不十分なので、偏向角度は低下していないものとして検証される。

#### 【0075】

小滴を適正に荷電して偏向させるためには、その小滴が（最後の接がれた小滴として）まだ流体の流れ 22 に接がれている間に荷電電圧パルス 32 を荷電カラー 31 に印加し、電荷移動のために導電性経路が確実に提供されるようにしなければならない。さらに、荷電電圧は小滴が流体の流れから分離するまで維持しなければならない。小滴は導電性表面と接触して電荷が小滴から放散することができるまでこの電荷を運ぶことになる。荷電電圧パルスは通常 1 つの小滴期間に等しいパルス幅を有する。

#### 【0076】

本発明のさらに別の特徴によれば、荷電された小滴が較正された選別時間でまだ搬送流体流からの分離の過程にあることを確実にするため、荷電電圧パルス32の幅は正常小滴期間の何分の1か（例えば、非制限的な例として30パーセント）まで短縮される。小滴分離時間がこの小滴荷電ウインドーの外にドリフトした場合は、小滴は搬送流から分離する時何ら電荷を有さないので、小滴は偏向されず非選別小滴流28内に間隙28を残さないであろう。結果として生ずる小滴選別の失敗は比較器77によって誤差として検出されるが、誤差を生ずる分離位置のドリフトによって望ましくない小滴が荷電される（ひいては選別される）ことは許容されないので、選別小滴収集容器41の内容物の汚染は回避される。

#### 【0077】

以上述べたことから認識されるように、従来のフローサイトメータ較正調整方法の上記で論じられた欠点は本発明の小滴移動経路監視機構によって成功裡に改善されるが、これは、荷電小滴の偏向によって形成された非選別流体小滴流の中の間隙が較正されたタイミングから逸脱した場合には小滴分離点を調整して初めに較正された空間位置に戻すよう動作するものである。さらに、本発明は偏向された小滴流の所定の特性を監視し、小滴選別偏向パラメータを制御可能に調整して、選別された小滴の偏向された移動経路を選別小滴収集容器への開口に一致した状態に維持し、それによって全ての選別された小滴の収集を最大化するよう動作する。

#### 【0078】

本発明による実施例を示し説明したが、本発明はそれに制限されるものではなく、当業者に分かるような非常に多くの変更及び変形が可能であるものと理解されるべきであるので、本発明が本明細書に示され説明された詳細に制限されることを望むものではなく、むしろそのような全ての変更及び変形を当業者にとっては当然なものとして範囲に含むつもりである。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

フローサイトメータの一般的な計器設置アーキテクチャの概略を例示する図である。

**【図 2】**

図 1 の動作に関連するタイミング図である。

**【図 3】**

本発明による小滴形成位置調整機構を利用するフローサイトメータシステムの一般的計器設置アキテクチャの概略を例示する図である。

**【図 4】**

図 2 の動作に関連するタイミング図である。

**【図 5 A】**

図 5 A は、小滴流の中の間隙の移動時間が測定され得る様子を例示するタイミング図(1)である。

**【図 5 B】**

図 5 B は、小滴流の中の間隙の移動時間が測定され得る様子を例示するタイミング図(2)である。

**【図 6】**

空気抵抗が小滴移動速度を遅らせる挙動の概略を例示する図である。

**【図 7】**

小滴対パケットを形成する 2 個のすぐに続く偏倚された小滴の概略を例示する図である。

**【図 8】**

小滴 3 個組パケットを形成する 3 個のすぐに続く偏倚された小滴の概略を例示する図である。

**【図 9】**

小滴 3 個組パケットを形成しそれに 1 個の個別の小滴が続く、4 個のすぐ続く偏倚された小滴を示す図である。

**【図 10】**

選別信号カウンタによってカウントされる選別信号と小滴計数信号の比較の概略を例示する図である。

**【図 11】**

光学的に透明な気流抑制保護室の概略を例示する図（その 1）である。

**【図 1 2】**

光学的に透明な気流抑制保護室の概略を例示する図（その 2）である。

**【図 1 3】**

光学的に透明な気流抑制保護室の概略を例示する図（その 3）である。

**【図 1 4】**

小滴荷電パルスの大きさを低減することで選択された空の小滴を補助移動経路に沿って偏向させる様子の概略を例示する図である。

**【図 1 5】**

荷電カラーの側面図を示す図である。

**【図 1 6】**

図 1 1～図 1 3 の光学的に透明な気流抑制保護室の透視図である。

**【図 1 7】**

荷電カラーの上面図（その 1）である。

**【図 1 8】**

荷電カラーの上面図（その 2）である。

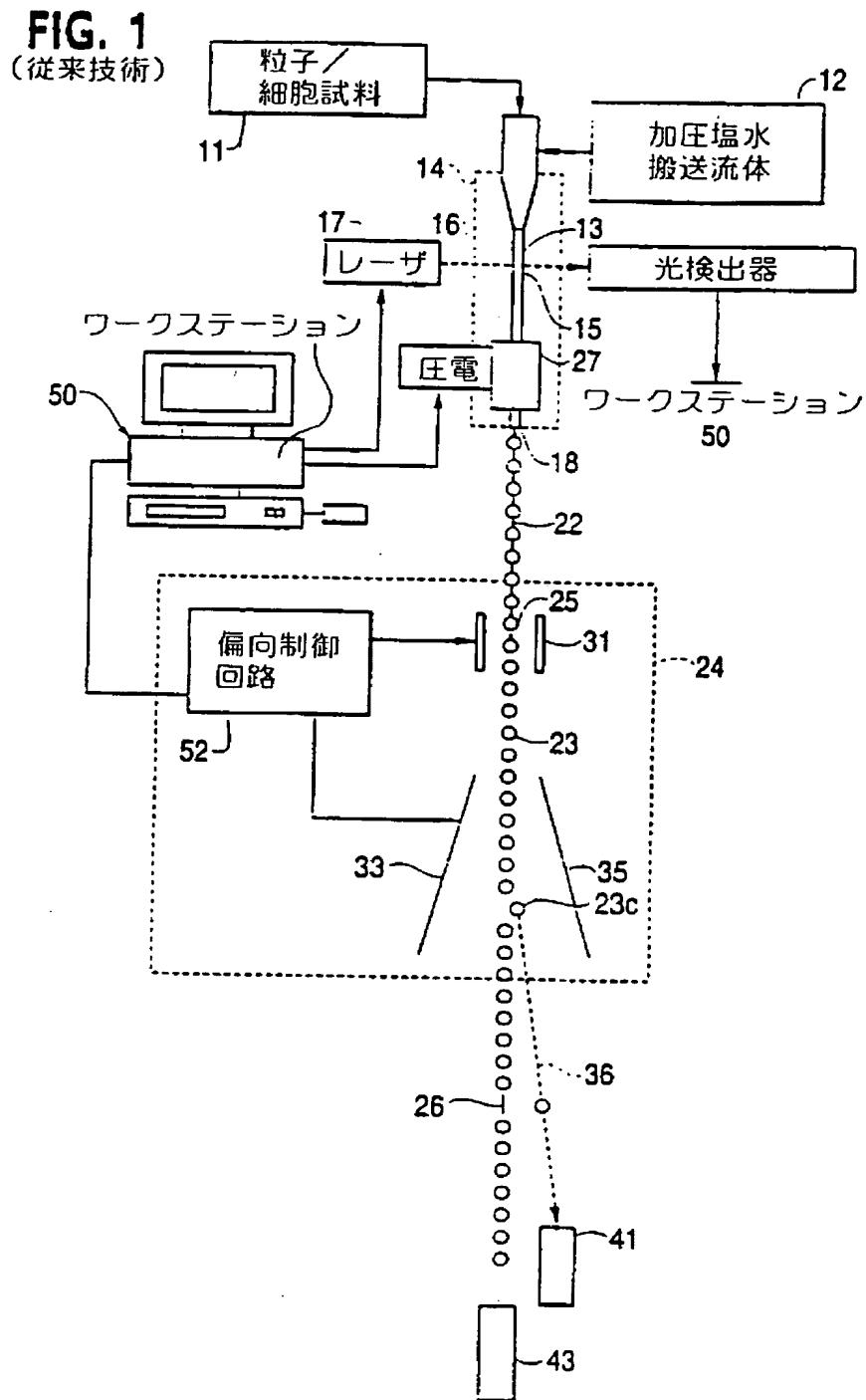
**【図 1 9】**

荷電カラーの前面図である。

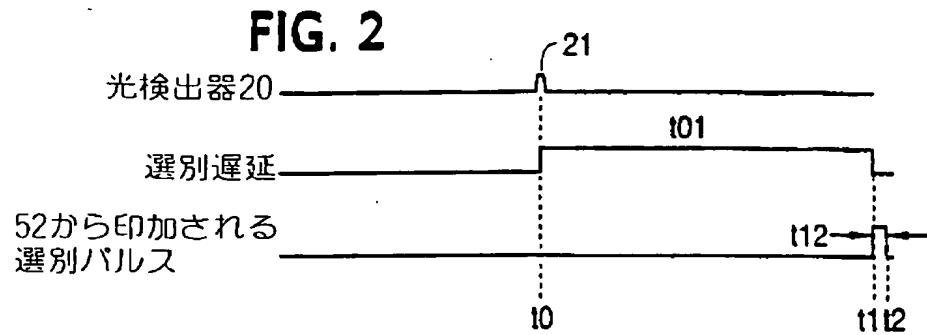
**【図 2 0】**

図 1 1 の光学的に透明な気流抑制保護室の中の気流カーテンの概略を例示する図である。

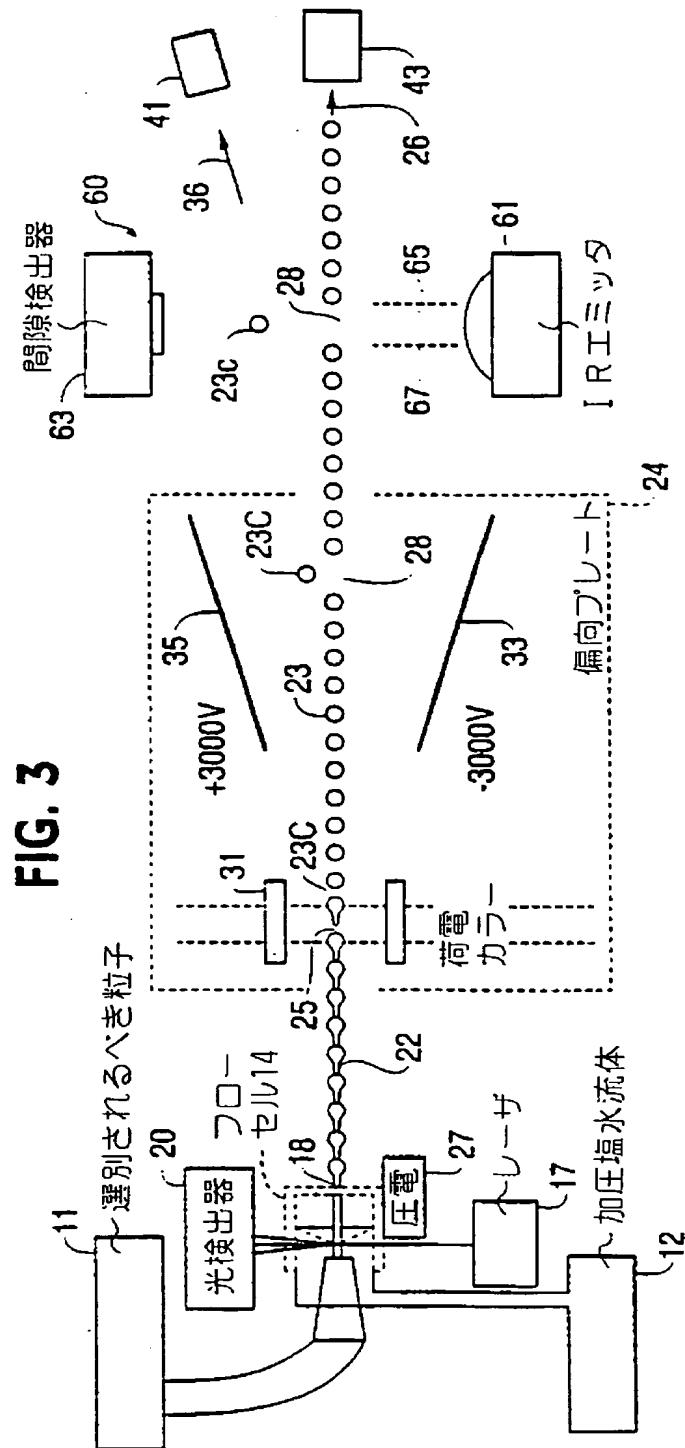
【図1】



【図2】

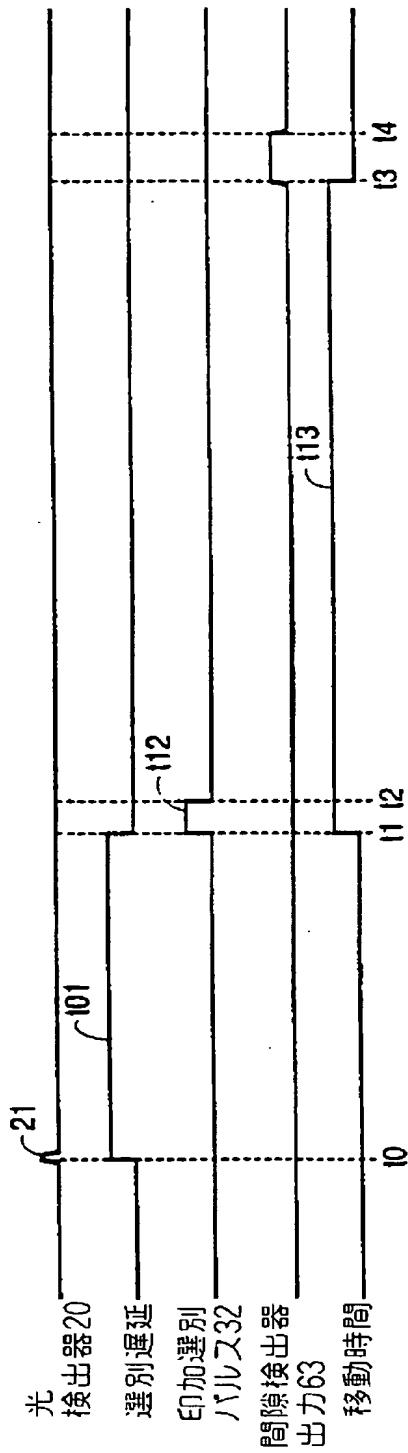


【図3】



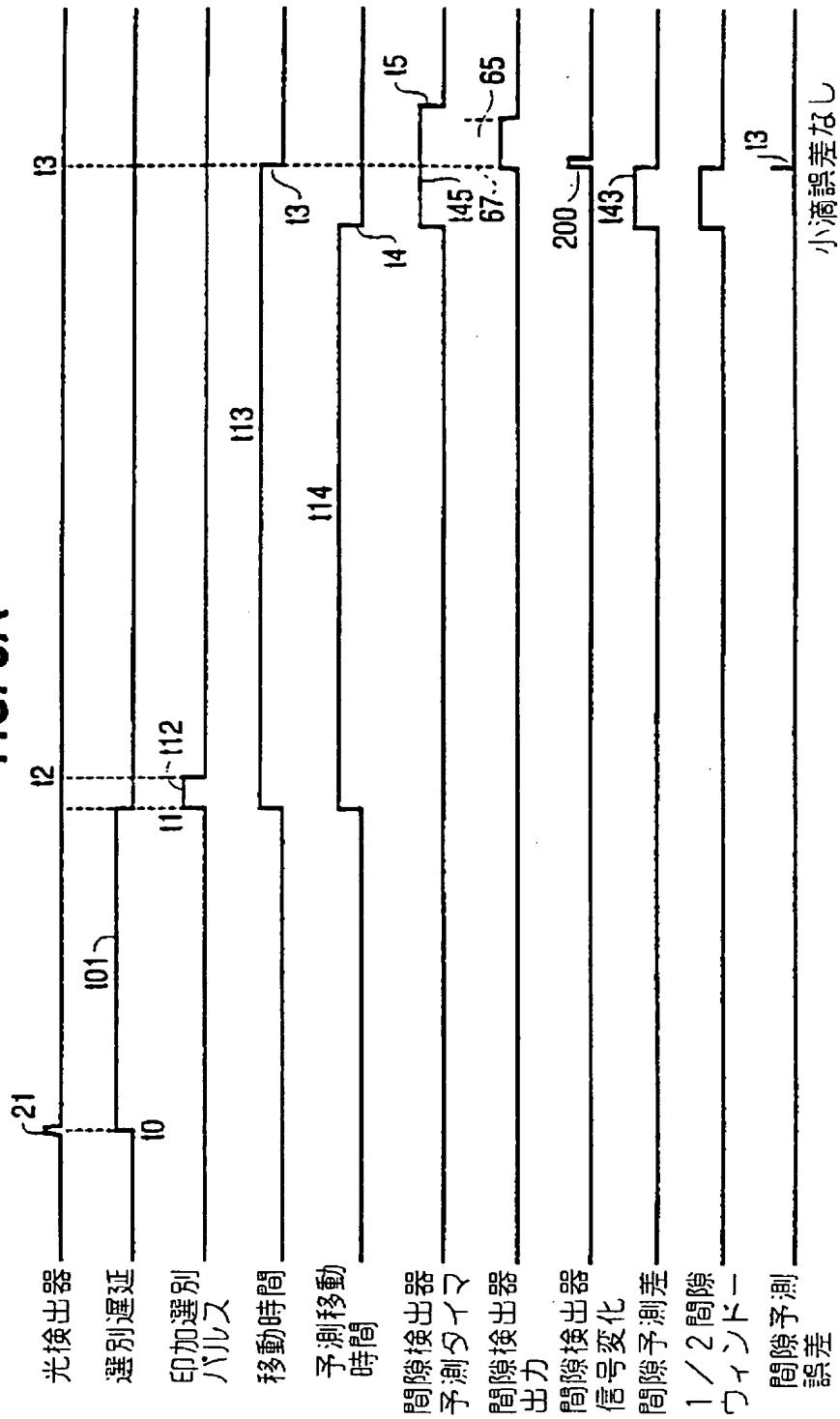
【図4】

FIG. 4



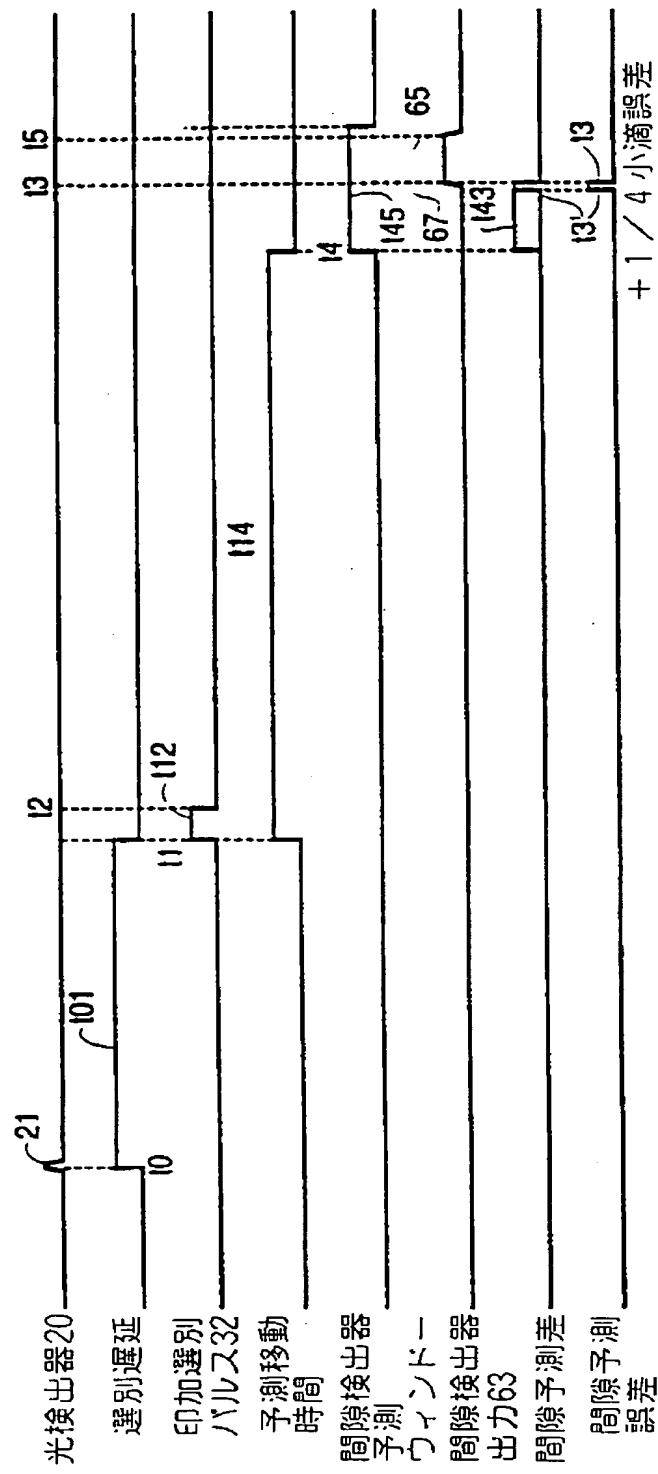
【図5A】

FIG. 5A



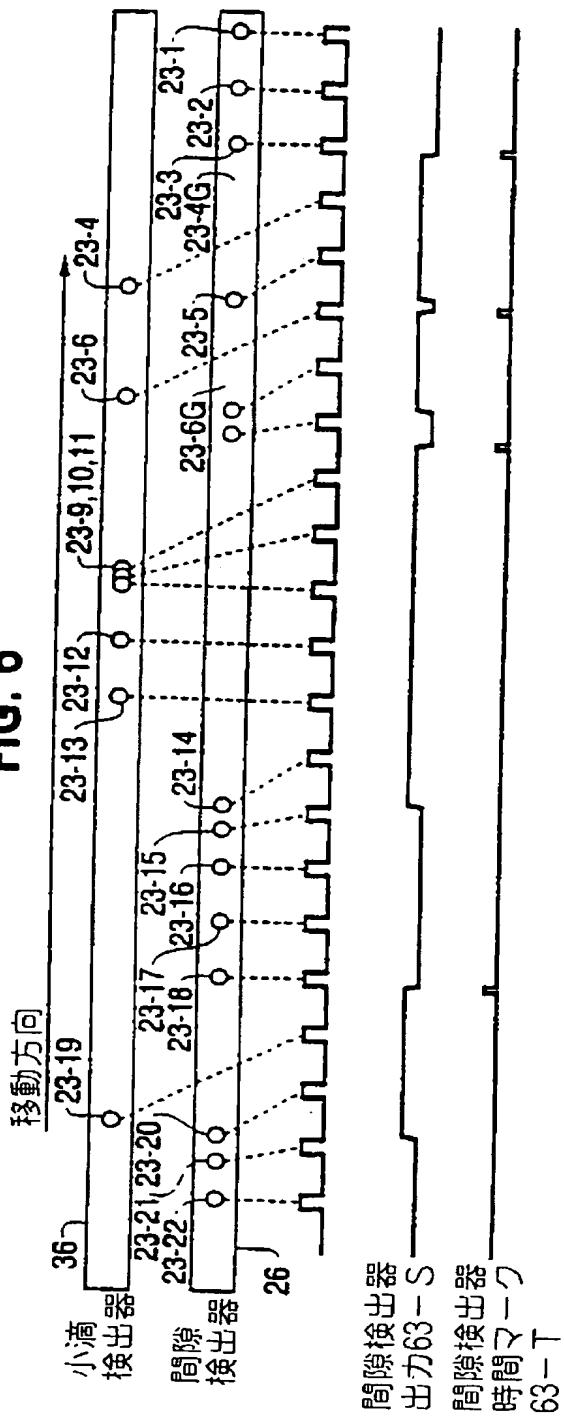
【図5B】

FIG. 5B

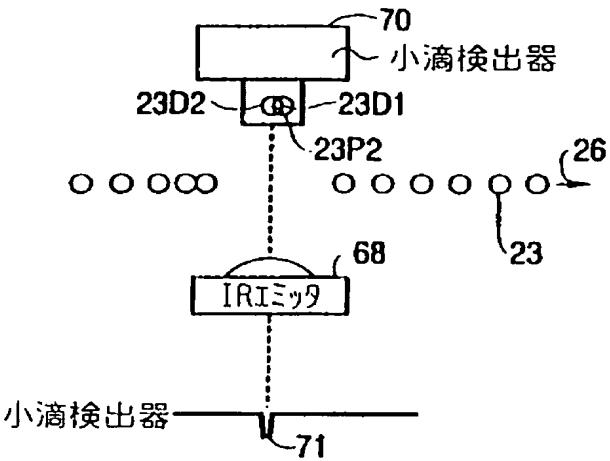


【図6】

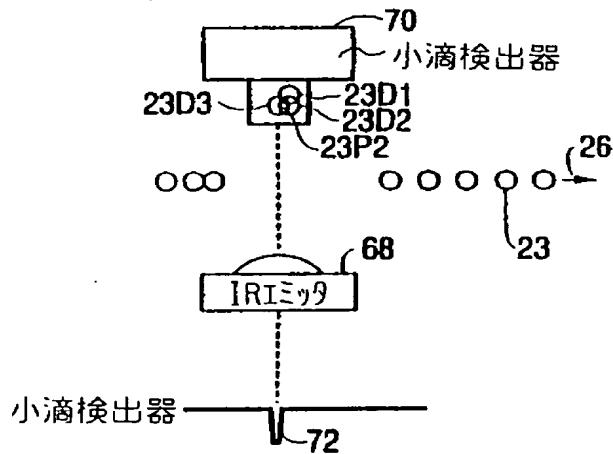
FIG. 6



【図7】

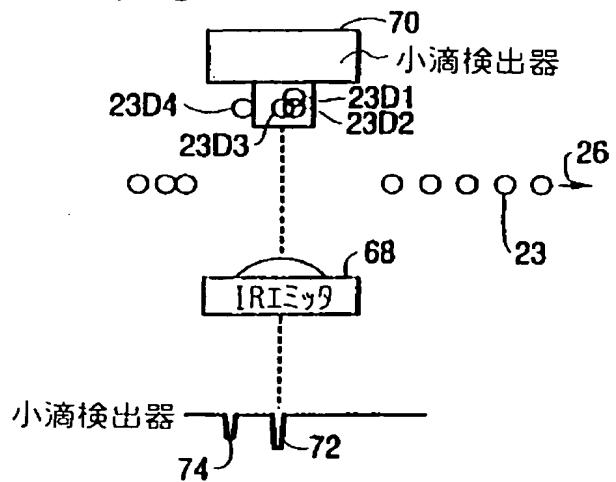
**FIG. 7**

【図8】

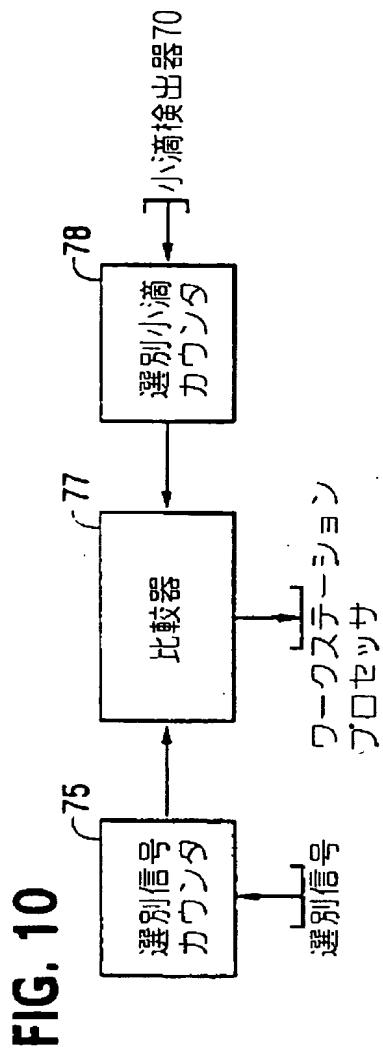
**FIG. 8**

【図9】

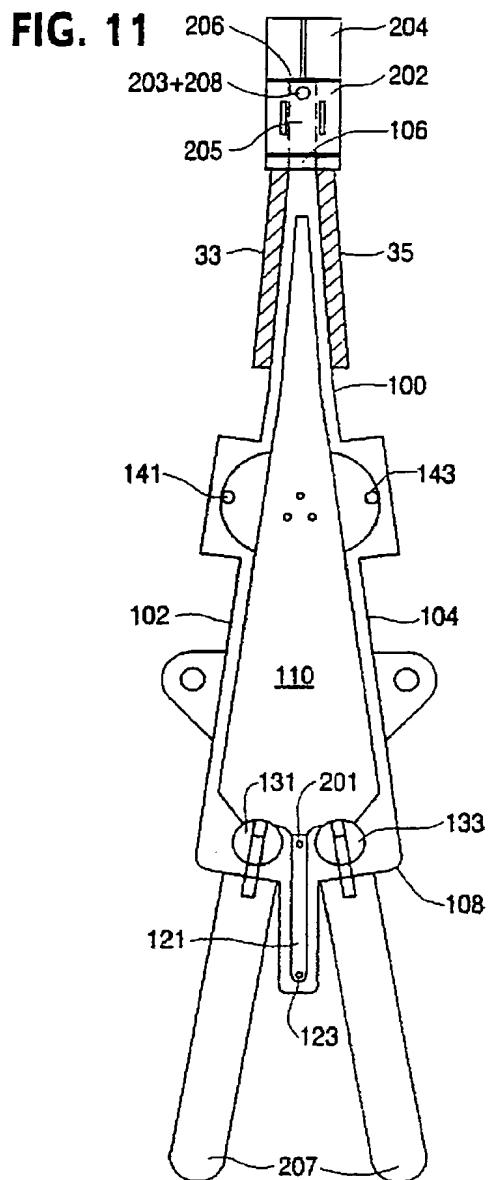
FIG. 9



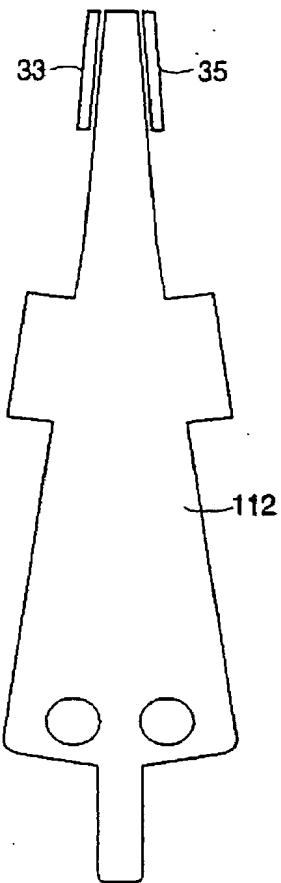
【図10】



【図11】

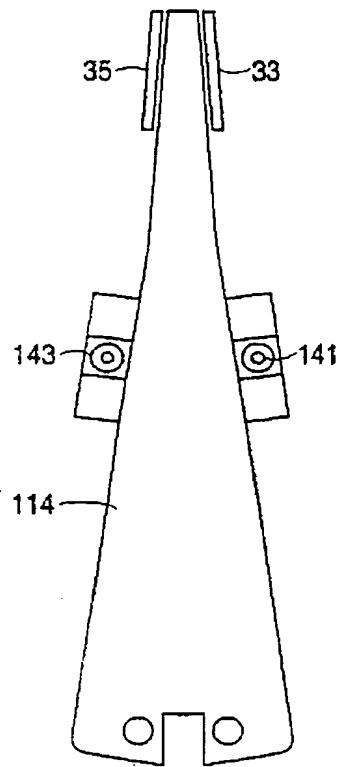


【図12】

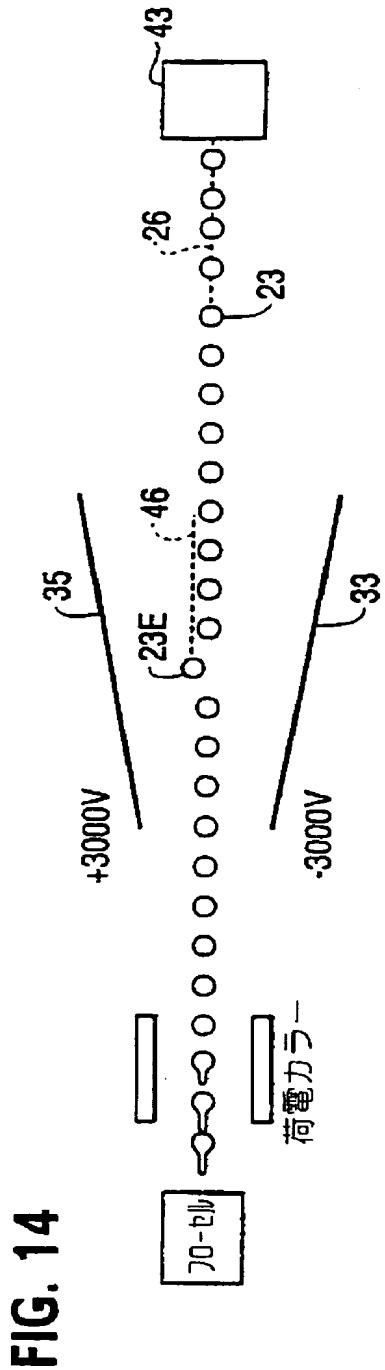
**FIG. 12**

【図13】

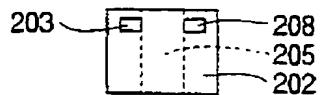
FIG. 13



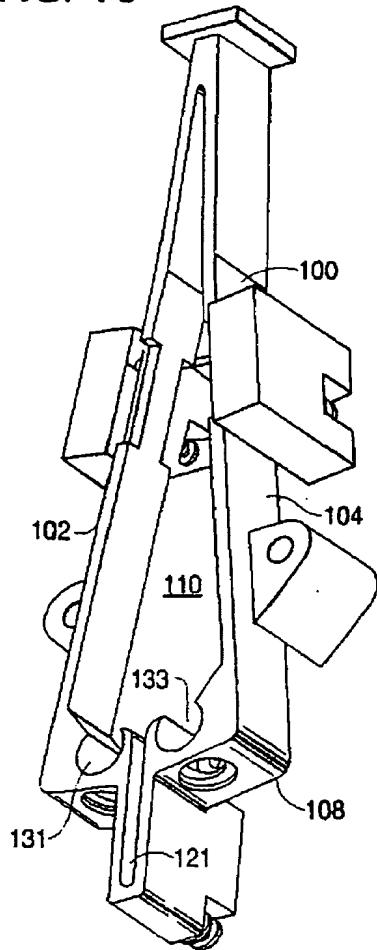
【図14】



【図15】

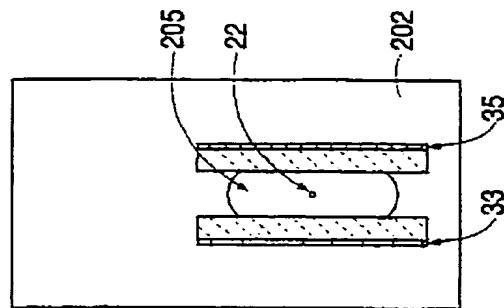
**FIG. 15**

【図16】

**FIG. 16**

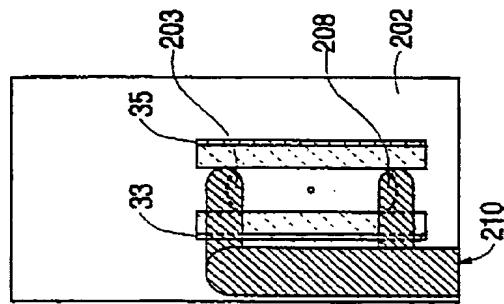
【図17】

FIG. 17



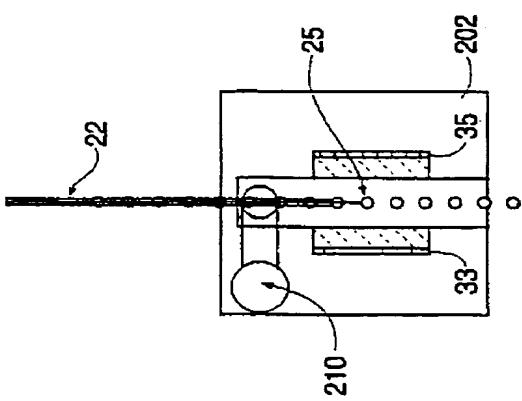
【図18】

FIG. 18



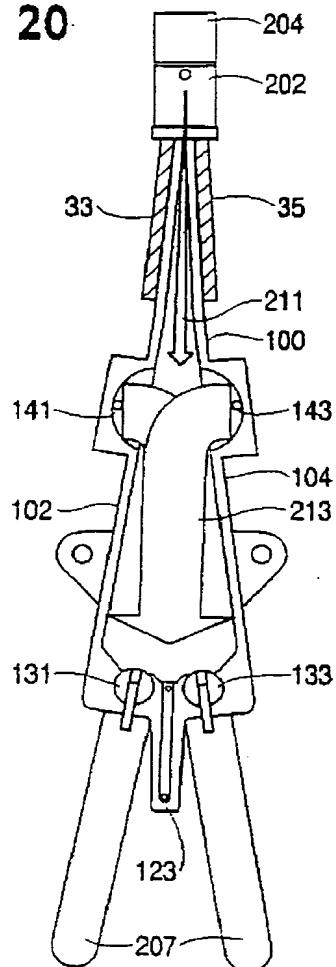
【図19】

FIG. 19



【図20】

FIG. 20



【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成12年8月9日(2000.8.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フローサイトメータ内の搬送流体から小滴が分離する点を制御する方法であつて、

一定に圧力制御された搬送流体が、小滴が前記搬送流体から分離する点を制御する小滴発生器に結合されたチャネルに沿って流れ、選択された小滴が、非選別小滴流が移動する非選別小滴経路から分離された選別小滴偏向経路に沿って静電的に荷電され、選別されるように小滴選別器が動作し、

(a) 前記小滴選別器による小滴の選別によって、前記の小滴の非選別流中に形成される間隙の存在について前記非選別小滴経路を監視するステップと、

(b) 前記ステップ(a)における前記の監視によって前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するステップとを含むフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項2】 前記ステップ(b)が、前記間隙が検出される時間と、前記間隙を形成した前記の選別された小滴が荷電された時間との間の第1の時間間隔と、第2の所定の時間間隔との間の差によって前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するステップを含む、請求項1に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

【請求項3】 前記ステップ(a)が、前記小滴選別器による小滴の選別によって、小滴の前記非選別流中に形成される間隙の存在について間隙検出器によって前記非選別小滴経路を監視することを含み、かつ、前記ステップ(b)が、

(b1) 前記小滴選別器によって小滴が選別される時間に予測間隙移動タイマを開始するステップと、

(b 2) 前記間隙が前記ステップ (a) で前記間隙検出器によって検出されると予想される時間から、前記間隙検出器から所定の数の小滴期間上流にある小滴が前記間隙検出器に到達するために必要な時間の長さを減算した時間より前の時間に前記予測間隙移動タイマを終了するステップと、

(b 3) 前記ステップ (b 2) での前記予測間隙移動タイマのタイムアウトに応答して、間隙検出器予測タイマと間隙予測差タイマを開始するステップであつて、該間隙検出器予測タイマが、小滴が前記間隙検出器の上流の位置から該位置の下流の位置まで移動するために必要な時間より後の時間に及ぶ複数の小滴期間の継続期間後にタイムアウトになり、ここで、前記間隙予測差タイマが、前記予測間隙移動タイマがタイムアウトする際に開始され、前記間隙が前記間隙検出器に到達する時間に終了するステップと、

(b 4) 前記非選別小滴流中の間隙を表す出力信号について、前記間隙検出器予測タイマのタイミング期間中前記間隙検出器を監視するステップと、

(b 5) 前記の予想時間以外の時間での前記出力信号の発生に応答して、前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するステップとを含む、請求項 2 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 4】** さらに、前記の選別された小滴の存在について前記選別小滴偏向経路を監視するステップ (c) を含み、前記ステップ (b) が、該ステップ (c) での前記選別された小滴の検出によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整することを含む、請求項 1 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 5】** 前記ステップ (c) が、前記選別小滴偏向経路で検出される前記選別された小滴の数と、前記小滴選別器によって選択的に選別される小滴の数との間の所定の関係によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整することを含む、請求項 4 に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 6】** 前記ステップ (b) が、前記の非選別小滴移動の流れが遭遇する少なくとも 1 つの空気抵抗に基づく所定の間隙適格基準を満足する前記ステップ (a) で検出された間隙と、該間隙の下流端の直ぐ前の連続非選別小滴の数とに応答して、前記小滴発生器の動作を制御可能に調整することを含む、請求項

1に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 7】** さらに、透明保護囲い板の壁表面に沿った方向に流体カーテンを向けることによって、前記選別小滴偏向経路及び前記非選別小滴経路の一部を前記サイトメータを取り巻く周囲空気の変動から遮蔽する前記ステップ(c)を含む、請求項1に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 8】** さらに、選択された小滴が前記選別小滴偏向経路と前記非選別小滴経路の間の補助移動経路に沿って偏向されるように、粒子がないと決定された前記選択された小滴を低減された荷電値で制御可能に荷電し、かつ、前記非選別小滴流中に間隙が検出されるか否かによって前記小滴選別器の偏向電界電圧が低下したかどうかを決定する前記ステップ(c)を含む、請求項1に記載のフローサイトメータの小滴分離点制御方法。

**【請求項 9】** 一定に圧力制御された搬送流体が流れるチャネルを有する流体流室を有するフローサイトメータであって、該チャネルが、小滴が該搬送流体から分離する搬送流体移動経路に沿った点を制御するように適応された小滴発生器と、選択された小滴が、非選別小滴流がそれに沿って移動する非選別小滴経路から分離した選別小滴偏向経路に沿って静電的に荷電され、選別されるよう動作する小滴選別器とに結合され、前記流体流室と、該小滴選別器による小滴の選別によって形成された、前記の小滴の非選別流中の間隙の存在について前記非選別小滴経路を監視するよう動作する検出器と、該検出器の出力によって前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するよう動作する制御装置とを有するフローサイトメータ。

**【請求項 10】** さらに、選別された小滴の存在について前記選別小滴偏向経路を監視するよう結合された選別小滴検出器を含み、前記制御装置が、該選別小滴検出器による前記選別された小滴の検出によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整するよう動作する、請求項9に記載のフローサイトメータ。

**【請求項 11】** 前記制御装置が、前記選別小滴偏向経路中で検出される前記選別された小滴の数と、前記小滴選別器によって選択的に選別された小滴の数との間の所定の関係によって前記小滴選別器の動作を制御可能に調整するよう動作する、請求項10に記載のフローサイトメータ。

【請求項 12】 前記制御装置が、前記の非選別小滴移動の流れが遭遇する少なくとも 1 つの空気抵抗と、間隙の下流端の直ぐ前の連続非選別小滴の数に基づく所定の間隙適格基準を満足する、前記間隙検出器によって検出される前記間隙に応答して前記小滴発生器の動作を制御可能に調整するよう動作する、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 13】 前記制御装置が、選択された小滴を前記選別小滴偏向経路と前記非選別小滴経路の間の補助移動経路に沿って偏向させるように、前記小滴選別器が、粒子がないと判定された前記選択された小滴を低減された荷電値で荷電し、前記非選別小滴流中に間隙が検出されるか否かによって前記小滴選別器の偏向電界電圧が低下したかどうかを決定するよう動作する、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 14】 前記制御装置が、前記間隙が検出される時間と、前記間隙を形成した前記の選別された小滴が荷電された時間との間の第 1 の時間間隔と、第 2 の所定の時間間隔との間の差によって前記小滴発生器の動作を調整するよう動作する、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 15】 さらに、保護室の内壁表面に沿って流体カーテンを形成することによって、前記選別小滴偏向経路及び前記非選別小滴経路の一部を前記サイトメータを取り巻く周囲空気の変動から遮蔽するよう構成された前記保護室を含む、請求項 9 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 16】 前記保護室が、相互間に開いた内部小滴移動領域を規定するように、入口ポートから分岐して端部壁で終了する一対の側壁を有する、光学的に透明で、一般に円錐形に直線で囲まれたハウジングを備え、小滴荷電カラーが前記流体流室に隣接する前記保護室の上部首部分に配置され、荷電小滴偏向プレートが前記保護室の外部側壁に沿って位置する、請求項 15 に記載のフローサイトメータ。

【請求項 17】 さらに、前記内壁表面に沿って前記室の空気排出ポートに真空制御された流体カーテンを向けるよう動作する、前記保護室の前記上部首部分の流体入口ポートと、前記一対の側壁の流体入口ポートとを含む、請求項 16 に記載のフローサイトメータ。

【請求項18】 搬送流体が流れるチャネルを有する保護室を備えたフローサイトメータであって、前記チャネルが、小滴が前記搬送流体から分離する点を制御する小滴発生器と、非選別小滴がそれに沿って移動する非選別小滴経路から分離された偏向経路に沿って選択された小滴を荷電し選別するよう動作する小滴選別器とに結合され、前記保護室が、相互間に開いた内部小滴移動領域を規定するよう、入口ポートから分岐し端部壁で終了する一対の側壁を有する、光学的に透明で、一般に円錐形に直線で囲まれたハウジングを備え、小滴荷電カラーが前記流体流室に隣接する前記保護室の上部首部分に配置され、荷電小滴偏向プレートが前記保護室の外部側壁に沿って位置する、フローサイトメータ。

【請求項19】 さらに、内壁表面に沿って前記の室の空気排出ポートに真空制御された流体カーテンを向けるよう動作する、前記保護室の前記上部首部分の流体入口ポートと、前記一対の側壁の流体入口ポートとを含む、請求項18に記載の保護室を備えたフローサイトメータ。

【請求項20】 前記端部壁が、前記非選別小滴経路と整合され、かつ、排出ポートによって廃棄物小滴容器に結合された一般に縦の穴を有し、さらに、前記一般に縦の穴から外れた前記端部壁の部分に配置された複数の選別小滴収集ポートを含み、外部の濾過されない空気による前記内部小滴移動領域の汚染を防止する相互間の弁を有し、前記室内の生物物質が前記フローサイトメータを汚染するのを防止する、請求項19に記載の保護室を備えたフローサイトメータ。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/US 99/14284

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 G01N15/14		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N B01L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claims No.
A	US 4 318 480 A (HANSEN W PETER ET AL) 9 March 1982 (1982-03-09) abstract; figure 1 column 7, line 5 -column 10, line 3 claims 1-11 ---	1,9
A	US 4 691 829 A (AUER ROBERT E) 8 September 1987 (1987-09-08) abstract; Figure 1 column 2, line 38 -column 3, line 18 column 4, line 37 -column 6, line 36 ---	1,9
A	US 4 361 400 A (ALGER TERRY W ET AL) 30 November 1982 (1982-11-30) abstract; figures 1,3 column 3, line 6 -column 3, line 27 column 5, line 64 -column 7, line 31 ---	1,9
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>'E' earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>'L' document which may show doubts on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified)</p> <p>'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		
<p>'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with this application but which is considered to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>'X' document of particular relevance; the claimed invention can not be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>'Y' document of particular relevance; the claimed invention can not be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>'Z' document member of the same patent family</p>		
Data of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
5 October 1999	15.12.99	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2940, Tx. 31 651 telex 101616 Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Runser, C	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No  
PCT/US 99/14284

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 700 692 A (SWEET RICHARD G) 23 December 1997 (1997-12-23) abstract; figure 1 column 2, line 68 -column 6, line 13 -----	1,9
A	DE 195 49 015 C (SIEMENS AG ;GSF FORSCHUNGSZENTRUM UMWELT (DE)) 3 April 1997 (1997-04-03) abstract; figures 1,2 column 1, line 63 -column 5, line 21 -----	1,9

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>	In national application No. <b>PCT/US 99/14284</b>				
<b>Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)</b>					
<p>This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:</li>       <li>2. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:</li>       <li>3. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentence of Rule 6.4(a).</li> </ol>					
<b>Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)</b>					
<p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. CLAIMS : 1-17</li> <li>2. CLAIMS : 18-20</li> </ol> <p><b>FOR FURTHER INFORMATION PLEASE SEE FORM PCT/ISA/206 MAILED 15.10.99.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.</li>   <li>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.</li>   <li>3. <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:</li>       <li>4. <input checked="" type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:</li> </ol>					
Remark on Protest <table style="margin-left: 20px;"> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>No protest accompanied the payment of additional search fees.</td> </tr> </table>		<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.				
<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.				

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International Application No. PCT/US 99/14284

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCTISA/ 210

**1. Claims: 1-17**

Method and device to maintain the point at which droplets break off from a cytometer's fluid stream at a calibrated droplet break-off location.

**2. Claims: 18-20**

Protective chamber for isolating the droplet travel region from the movement of ambient air.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern'l Application No  
PCT/US 99/14284

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 4318480 A	09-03-1982	CA 1145714 A		03-05-1983
		DK 357180 A		21-02-1981
		EG 14710 A		30-09-1986
		EP 0025296 A		18-03-1981
		FI 892617 A,B,		21-02-1981
		IE 50110 B		19-02-1986
		JP 56033052 A		03-04-1981
		NO 802464 A		23-02-1981
		ZA 8005093 A		31-03-1982
US 4691829 A	08-09-1987	US 4487320 A		11-12-1984
US 4361400 A	30-11-1982	NONE		
US 5700692 A	23-12-1997	NONE		
DE 19549015 C	03-04-1997	EP 0781985 A		02-07-1997
		JP 9196855 A		31-07-1997
		US 5916449 A		29-06-1999

---

フロントページの続き

- (72)発明者 ラリー, トッド  
アメリカ合衆国, フロリダ 33032, ホー  
ムステッド, サウス ウエスト 238 ス  
トリート 14870
- (72)発明者 フレイザー, エリック  
アメリカ合衆国, フロリダ 33326, ウエ  
ストン, ランターナ ドライブ 1528
- (72)発明者 ミランダ, オスバルド イー.  
アメリカ合衆国, フロリダ 33183, マイ  
アミ, サウス ウエスト 146 コート  
7405